

# EXPERIENTIA



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES  
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT  
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE  
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:

A.v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE

Bern

Zürich

Genève

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG · BASEL 10

SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Vol. VII. - Fasc. 6

15. VI. 1951

Fr. 3.-

## SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

- J. LEVER: On the Influence of Anti-thyroid Substances on the Hormone Production of the Thyroid Gland . . . . . 201  
W. KOELLA: Stumme Leistungen der Propriozeptivität . . . . . 208

### Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

- B. HARGITAY: Einfluß kapillaraktiver Stoffe auf die Bangersche Methode zur Bestimmung der Dampfdruckerniedrigung . . . . . 214  
P. BAERTSCHI: Zur Frage der Herkunft des Sauerstoffs bei der Oxydation von Wasserstoffperoxyd durch Permanganat . . . . . 215  
K. H. MEYER, L. HUBER et E. KELLENBERGER: La texture de la cellulose animale . . . . . 216  
V. P. WHITTAKER: Idrolisi della succinilcolina da colinesterasi: Utilizzazione simultanea della cromatografia su carta e della tecnica di Warburg . . . . . 217  
E. C. GROB, G. G. PORETTI, A. VON MURALT et W. H. SCHOPFER: Recherches sur la biosynthèse des caroténoïdes chez un microorganisme. Production de caroténoïdes marqués par *Phycomyces blakesleeana* . . . . . 218  
M. KAMAL et M. MUFTIC: L'isolation de microbes cérolytiques . . . . . 219  
A. PORTELLA: Azione del diclorodifeniltricloroetano sullo sviluppo del bacillo di Koch . . . . . 220  
F. X. WOHLZOGEN et A. HALAMA: Über die Empfindlichkeit der männlichen Wechselkröte gegenüber Chorion-Gonadotropin . . . . . 221  
G. BACCI: Existence of True Males and Females in a Hermaphrodite Population of *Ophryotrocha puerilis* . . . . . 222  
J. COLE and P. GLEES: Handedness in Monkeys . . . . . 224  
P. WASER und W. HUNZINGER: Über die Fixierung von hochmolekularen Kohlehydraten in der Lunge . . . . . 226  
G. MARINONE: Sur la teneur en acide désoxyribonucléique des érythroblastes au cours de la mitose chez l'homme . . . . . 227  
J. B. BOURQUIN: Influence de la Cortisone sur l'inflammation expérimentale de la chambre antérieure du lapin, causée par de la poudre de talc stérile . . . . . 229  
S. NEUKOMM: Les 17-cétostéroïdes tissulaires chez le rat porteur de sarcome chimique . . . . . 230  
D. BOVET, F. BOVET-NITTI, L. SOLLERO et G. B. MARINI-BETTOLO: Recherches sur les dérivés de la 1,2,3,4-tétrahydro-2-naphtylamine présentant les propriétés sympatholytiques et ocytociques des alcaloïdes de l'ergot . . . . . 232  
J. DE FLINES: A new Type of Tissue Slicer (Pro Laboratorio) . . . . . 234

### Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

- Physiologie de l'Insecte. Par Rémy Chauvin (Edition de l'Institut National de la Recherche Agronomique, Paris 1949) (Ref. M. Lüscher) . . . . . 235  
I Fenomeni cromosomici della meiosi. Di Claudio Barigozzi (Ambrosiana, Milano 1948) (Ref. R. Matthey) . . . . . 236  
Herrlicher Vogelflug. Von Gordon C. Aymar (Verlag Werner Krebser, Thun 1949) (Ref. M. Reichel) . . . . . 236  
Grundzüge der terrestrischen Tierökologie. Von Wolfgang Tischler (Verlag Friedrich Vieweg & Sohn, Braunschweig 1949) . . . . . 236

### Informations - Informationen - Informazioni - Notes

- Studiorum progressus: T. WIKÉN, H. G. KELLER, C. L. SCHELLING und A. STÖCKLI: Über die Verwendung von Myzel-suspensionen als Impfmateriel in Wachstumsversuchen mit Pilzen . . . . . 237  
Oecologica: M. PRENANT: Un Inventaire de la Faune marine de Roscoff . . . . . 239  
Addendum . . . . . 240



# EXPERIENTIA



L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications*;
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées*.

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienenen *Bücher*, durch Referate über *Kongresse und Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

## EXPER.

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 3.—. Abonnement pour un an fr. 28.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 34.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.

Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant. Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à part. de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.

Prix pour les annonces:  $\frac{1}{1}$  page fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  page fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  page fr. 70.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.

L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhäuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15  
Tél. 498 00; adresse télégraphique: Edita Bâle

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Portugal, Schweden und Tschechoslowakei nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.

Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 28.—, im Ausland sFr. 34.—; die Einzelnummer kostet Fr. 3.—.

Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschließlich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin, d.h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.

Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 × 21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.

Insertionspreise:  $\frac{1}{1}$  Seite Fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  Seite Fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  Seite Fr. 70.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratannahme durch den Verlag.

Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15  
Tél. 498 00; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi*, in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni*;
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni*, come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports*;
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings*, as well as through other communications.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 3.—. L'abbonamento annuo è di fr. 28.— per la Svizzera; all'estero fr. 34.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.

La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.

Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 × 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.

Prezzi per annunci:  $\frac{1}{1}$  pag. fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  pag. fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  pag. fr. 70.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.

EXPERIENTIA si stampa in Svizzera.

Casa editrice Birkhäuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15  
Tel. 498 00; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

EXPERIENTIA is published on the 15<sup>th</sup> of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 3.—, by annual subscription by inland-mail fr. 28.—; other countries fr. 34.—. Prices in Swiss currency. All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10<sup>th</sup> of the preceding month.

The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 × 21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.

Prices for advertising:  $\frac{1}{1}$  page fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  page fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  page fr. 70.—. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15  
Phone 498 00; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

### Verzeichnis der Inserenten — Liste des annonceurs — List of Advertisers — Experientia VII/6

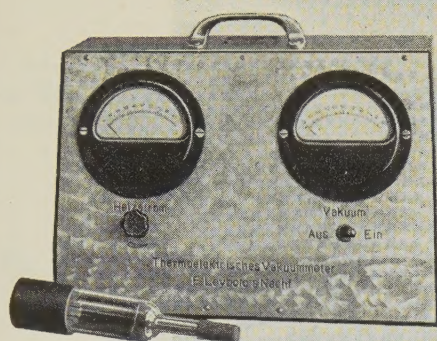
CIBA AG., Basel  
Karl Kirchner AG., Bern

Birkhäuser AG., Basel  
Ganz & Co., Zürich  
E. Mettler, Zürich

Sauter AG., Basel  
Schwitter AG., Basel  
Sandoz AG., Basel

Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich  
Biological Abstracts, Philadelphia  
Long Island Biological Association,  
Long Island





## Thermoelektrisches Vakuummeter

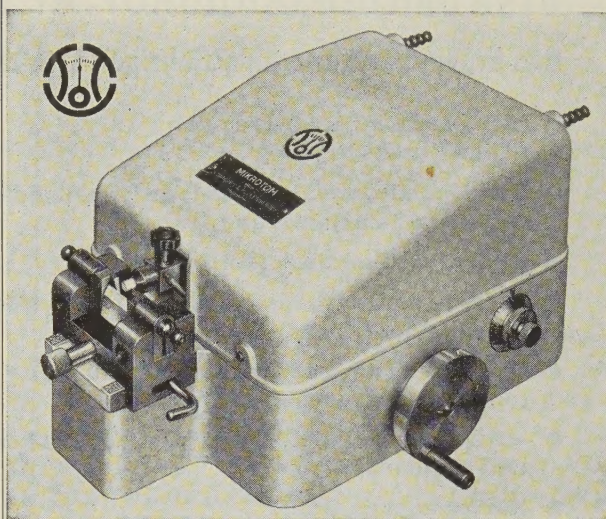
mit einstellbarem Messbereich  
von  $10-10^{-3}$  mm Hg

Ununterbrochene  
direkte Druckmessung durch  
Zeigerablesung

**KARL KIRCHNER AG. BERN**  
Freiestraße 12, Tel. (031) 2 45 97

Verlangen Sie Offerte!

Das neue Mikrotom  
für die Elektronenmikroskopie

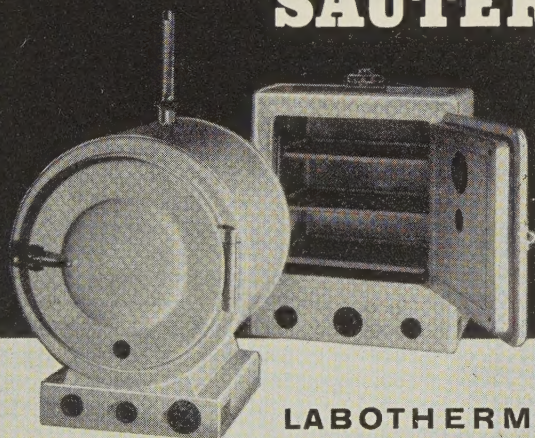


Es erzeugt erstmals regelmäßige Schnittbänder von  $0,05 - 1 \mu$   
und ist unempfindlich gegen Erschütterungen

**Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich**

Fabrik elektr. Meßinstrumente und wissenschaftlicher Apparate

**SAUTER**



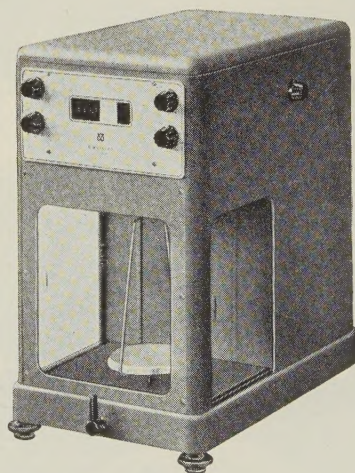
**LABOTHERM**

Elektr. Wärmeschränke für Laboratorien

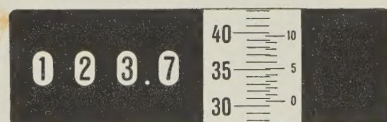
Prüfschränke für Farben und Lacke  
Härteprüfung von Kunststoffen  
Dichte - Feuchtigkeit - Säuregehalt-  
prüfungen, Vorwärmung u.s.w.  
Trockenschränke, Sterilisatoren  
Brut- und Labschränke, Vakuumschränke

FR. SAUTER A.G.,  
FABRIK ELEKTRISCHER APPARATE, BASEL

**METTLER** Analysenwaagen



Sie lesen direkt ab:



genau  
schnell  
einfach  
sicher

Gewicht:  
123,7306 g

Verlangen Sie unverbindlich Offerte oder Demonstration

**E. METTLER ZÜRICH 1**  
Pelikanstr. 19, Tel. (051) 25 25 70



# NEUES **ZEISS-WINKEL** STANDARD-MIKROSKOP GF 524

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

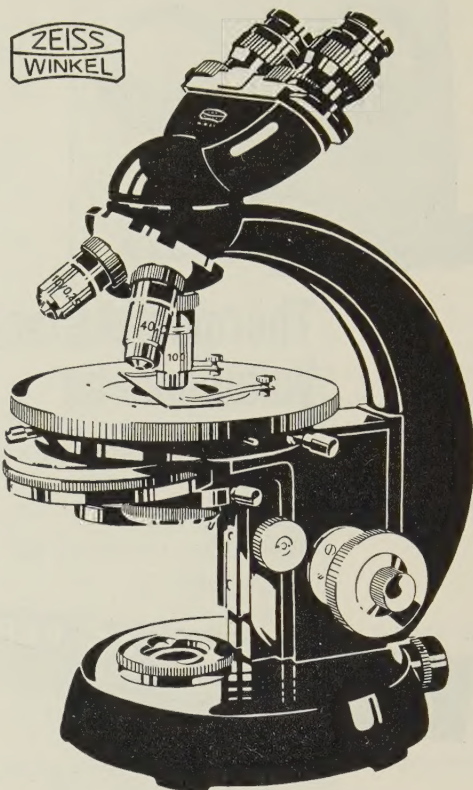
- Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhler'sches Prinzip)
- Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung
- Neuartiger Gleittisch (Fettfraktion)
- Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive
- Vergrößerungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)
- Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor
- Hervorragende Optik

Auskunft und Vorführung durch die  
Generalvertretung für die Schweiz:

**GANZ & Co**

Bahnhofstrasse 40  
Tel. (051) 23 97 73

*Zürich*



## ORIGIN AND EVOLUTION OF MAN

Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology

Volume XV (1950)

440 quarto pages, with numerous figures

Authoritative reviews of many aspects of the evolution problem, presented by geneticists, anthropologists, and paleontologists in 37 papers and edited discussions. Subjects considered are: population as a unit of study, origin of the human stock, classification of fossil men, genetic analysis of racial traits, race concept and human races, constitution, and perspectives of future research. Table of contents sent on request.

Previous volumes still available: IX (1941) Genes and Chromosomes; XI (1946) Heredity and Variation in Microorganisms; XII (1947) Nucleic Acids and Nucleoproteins; XIII (1948) Biological Applications of Tracer Elements; XIV (1949) Amino Acids and Proteins.

Price per volume: \$7.00 (postage extra; domestic 25 cents, foreign 50 cents).

Address:

Biological Laboratory, Cold Spring Harbor,  
New York





## On the Influence of Anti-thyroid Substances on the Hormone Production of the Thyroid Gland

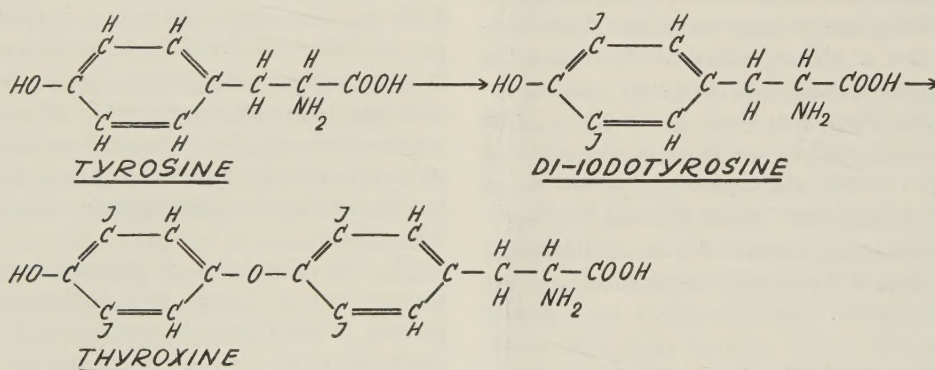
By J. LEVER<sup>1</sup>, Utrecht

### 1. Introduction

During the last few years endocrinologists have taken more interest in the thyroid gland than some years ago. Before the second World War we had come to a deadlock, as the experimental possibilities of penetrating into the secrets of the thyroid gland were very limited.

The discovery of the thyroid-stimulating hormone (TSH) of the anterior pituitary had revealed only the relation: pituitary-thyroid and the morphological basis of the hormone-producing process in the thyroid gland, without disclosing anything of the essential events or of the rôle of TSH during this process.

Significant progress was made only in the analysis of the chemical constitution of the thyroid hormone (TH). It was found that thyroxine is the essential component of TH, originating after iodization of the amino-acid tyrosine, followed by condensation of two molecules of di-iodotyrosine. This is illustrated by the formula:



During and after the war very important advances were made with the help of two new experimental techniques. These not only led to the discovery of the essential processes of TH-formation, but also allowed the beginning of a broad inquiry into the function of TSH and its connection with TH. These two techniques were the use of radio-active iodine and the anti-thyroid substances. We shall occupy ourselves only with the last-named substances.

<sup>1</sup> Zoological Laboratory, University of Utrecht. Present address: Zoological Laboratory, Vrije Universiteit, Amsterdam.

In 1928 CHESNEY<sup>1</sup> *et al.* turned their attention to the phenomenon that rabbits after feeding on cabbage often exhibit a goitre, caused by a massive enlargement of the thyroid gland. Histological investigation of such thyroids showed that the number of cells and the vascularity had increased, but also that the colloid content of the follicles had decreased. Therefore there must be in the cabbage plant a "goitrogenic" substance (later on called "anti-thyroid" substance). As cabbage plants contain much organic cyanide, it was thought that these were responsible for the goitrogenic activity. SPENCE<sup>2</sup> found indeed that cyanides have a goitrogenic action.

A considerable time later various investigators (BARKER *et al.*<sup>3</sup>, FAHLUND<sup>4</sup>, RAWSON<sup>5</sup> *et al.*) were looking more in the direction of the thiocyanates. They observed that patients treated with thiocyanate for some other disease showed goitre symptoms. It was found that iodine and thyroid preparations have a prophylactic effect in relation to these symptoms.

At the same time a New Zealand research group was interested in the typical action of cabbage. KENNEDY and PURVES<sup>6</sup> studied the influence of seeds of several races of *Brassica* on the thyroid of rats, and observed the activation phenomena mentioned above. Moreover

<sup>1</sup> A. M. CHESNEY *et al.*, Bull. John Hopk. Hosp. 43, 261 (1928).

<sup>2</sup> A. W. SPENCE, St. Barth. Hosp. Rep. 67, 201 (1934).

<sup>3</sup> M. H. BARKER *et al.*, J. Amer. med. Ass. 117, 1591 (1941).

<sup>4</sup> G. T. R. FAHLUND, Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. 17, 289 (1942).

<sup>5</sup> R. W. RAWSON *et al.*, Ann. Int. Med. 19, 829 (1943).

<sup>6</sup> F. H. KENNEDY and H. D. PURVES, Brit. J. exper. Path. 22, 241 (1941).



GRIESBACH<sup>1</sup> examined the anterior pituitary during treatment with that seed, from which he concluded that changes occur in the anterior pituitary closely related to the changes in the thyroid caused by goitrogenic factors in the seed.

After the fundamental investigations of GRIESBACH, KENNEDY and PURVES<sup>2</sup> it was possible to sum up the broad outlines of the interaction: pituitary-thyroid in connection with the goitrogenic influence of the *Brassica*-factor. They studied the influence of *Brassica* seed on the thyroids of hypophysectomized rats and found that these became inactive. They also observed that in thyroids of rats hypophysectomized after a long treatment with seed, histological activity rapidly decreased. So these investigators came to the modern conception of the antithyroid action: prevention of TH-synthesis → decrease of TH-concentration in blood → increase of TSH-production → histological activation of the thyroid gland.

KENNEDY<sup>3</sup> supposed that the goitrogenic *Brassica*-factor might be a thiourea-derivative, in which he was supported by his later discovery of the goitrogenic potency of thiourea and of allyl-thiourea. RICHTER and CLISBY<sup>4</sup> observed the same potency for phenyl-thiourea.

At the same time that BARKER discovered the goitrogenic potency of the thiocyanates and the New Zealand research group analysed the activity of the *Brassica*-factor and related it with the thiourea-derivatives, MACKENZIE, MACKENZIE and MCCOLLUM<sup>5</sup> found still another group of anti-thyroid substances; they studied the influence of sulfanilylguanidine on the metabolism of the gut flora of rats and incidentally observed that the thyroid glands of the experimental animals were 3–8 times as large as those of the controls, having also a higher activity. In the same publication they mentioned that they were busy studying other "sulfa drugs", as well as thiourea. This publication was followed by a stream of observations and experiments, causing an important increase of our knowledge of the physiology of the thyroid gland.

In recent publications, ASTWOOD<sup>6</sup> *et al.* and CARROLL<sup>7</sup> demonstrated that 1-5-vinyl-2-thio-oxazolidon is the typical *Brassica*-factor.

## 2. The hormone production in the thyroid gland

As stated above, thyroxine is the essential component of TH. It is linked to a protein with an albumin nature.

We must realize that in the formation of TH we are considering the following processes: concentration in the thyroid cells of iodides circulating in blood, liberation of iodine from the iodides, iodization of tyrosine in a tyrosine-containing protein with a globulin nature, condensation of di-iodotyrosine and thus formation of thyroxine, secretion of the so-formed thyreoglobulin into the lumina of the follicles, conversion of the thyreoglobulin to thyreoalbumin, and finally secretion of the thyreoalbumin into the bloodstream. In outline we can distinguish four stages in the process of the formation and release of thyreoalbumin:

- (a) the action of the cells in concentrating iodides,
- (b) the formation of thyreoglobulin,
- (c) the accumulation of thyreoglobulin and formation of thyreoalbumin in the colloid,
- (d) the delivery of thyreoalbumin by the cells.

Before we can discuss the specific actions of the anti-thyroid substances, we have to consider these processes.

(a) *The iodide-concentrating action.*—With the help of radio-active iodine it was possible to study this process exactly. VANDERLAAN and BISSELL<sup>1</sup> injected radio-iodide into animals and after a few minutes found it again in the thyroid. LEIN<sup>2</sup> observed organically bound radio-iodine already after 5 minutes (in the form of di-iodotyrosine or thyroxine), the maximum concentration of radio-iodides being found after 10 minutes. Gradually the concentrated inorganic iodine is transmuted into organic iodine. It is curious that the thyroid concentrates especially the elements of the seventh group of the periodical system: besides iodine also bromine, manganese and rhenium (BAUMANN *et al.*<sup>3</sup>) TSH has no influence on the iodide-concentrating process: KEATING<sup>4</sup> *et al.* observed thyroid hypertrophy 24 hours after TSH-injection, but an increased iodide-concentrating action only after 48 hours. As yet the quintessence of the iodide-concentrating process is unknown. It is thought by most authors (e. g. SALTER<sup>5</sup>) that in the thyroid a loose linkage with colloidal proteins takes place.

(b) *The formation of thyreoglobulin.*—Before the thyroid cell can begin with iodization of a globulin protein, it must have free iodine at its disposal. Thus there has to be a strong oxydizing system, capable of liberating iodine from the iodides. In this connection many authors thought of cytochrome-oxydase. The investigations of LERNER and CHAIKOFF<sup>6</sup> and of GLOCK<sup>7</sup> have established that this idea is incorrect. By studying e. g. the respiration of thyroid-tissue, and

<sup>1</sup> W. E. GRIESBACH *et al.*, Brit. J. exper. Path. 22, 245 (1941); 22, 249 (1941).

<sup>2</sup> W. E. GRIESBACH *et al.*, Brit. J. exper. Path. 22, 245 (1941); 22, 249 (1941). — F. H. KENNEDY and H. D. PURVES, Brit. J. exper. Path. 22, 241 (1941).

<sup>3</sup> F. H. KENNEDY, Nature 150, 233 (1942).

<sup>4</sup> C. P. RICHTER and K. E. CLISBY, Arch. Path. 33, 46 (1942).

<sup>5</sup> C. J. MACKENZIE, J. B. MACKENZIE, and A. MCCOLLUM, Science 94, 518 (1941).

<sup>6</sup> E. B. ASTWOOD *et al.*, Science 109, 631 (1949).

<sup>7</sup> K. K. CARROLL, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 71, 622 (1949).

<sup>1</sup> W. P. VANDERLAAN and A. BISSELL, Endocrinol. 33, 308 (1946).

<sup>2</sup> A. LEIN, Endocrinol. 32, 429 (1943).

<sup>3</sup> E. J. BAUMANN *et al.*, Endocrinol. 33, 44 (1944); Proc. Soc. exper. Biol. Med. 72, 502 (1949).

<sup>4</sup> F. R. KEATING *et al.*, Endocrinol. 36, 137 (1945).

<sup>5</sup> W. F. SALTER, Ann. Rev. Biochem. 14, 561 (1945).

<sup>6</sup> S. R. LERNER and I. L. CHAIKOFF, Endocrinol. 37, 362 (1945).

<sup>7</sup> G. E. GLOCK, Nature 158, 169 (1946).



adding substances preventing up to 80% of the formation of di-iodotyrosine and of thyroxine (so if the cytochrome-oxidase plays a part in the hormone production, it must partly be occupied by these substances), it was found that the oxygen consumption was not influenced. Consequently the cytochrome-oxidase cannot be related to the production of thyroid hormone. By DEMPSEY<sup>1</sup> and other investigators peroxidase is held responsible for the reaction.

In general the processes of iodization and condensation also are attributed to enzymes. But a number of authors think that the hormone synthesis is a chemical process acting entirely without enzymes. They tend to quote the publication of LUDWIG and VON MUTZENBECHER<sup>2</sup>, who could synthesize thyroxine by treating proteins with iodine at a special  $p_H$ . This opinion can be found e. g. in FORMIJNE<sup>3</sup>. As we shall see below, he connects the anti-thyroid action of the thiourea derivatives with this hypothesis; a theory against which we shall raise an objection.

(c) *Accumulation of thyreoglobulin and formation of thyreoalbumin.*—After producing thyreoglobulin, the cells secrete it into the lumen of the follicle, where it forms the colloid. Following thyreoglobulin they also secrete enzyme granules into the colloid. OKKELS<sup>4</sup> first described this. DE ROBERTIS<sup>5</sup> collected some colloid by means of micro-dissection. It was evident that it contained a proteolytic enzyme, as it could break down a gelatin substrate. So this enzyme probably reduces the size of the globulin molecules. The albumin molecules so formed are absorbed by the cells and afterwards secreted into the blood vessels.

The viscosity of the colloid is regulated by the action of a glycoprotein and a spreading factor also secreted by the cells into the colloid (GERSH<sup>6</sup>, LEVINE<sup>7</sup>).

(d) *The delivery of thyreoalbumin.*—This is the single part of the process of the TH-formation which is directly influenced by TSH. The manner in which delivery is brought about has hardly yet been investigated. This is due to the slight knowledge we have of TSH. After TSH-injection the cell becomes higher and secretes granules containing proteolytic enzymes; the formation of thyreoalbumin increases, and thus more TH is delivered into the bloodstream.

### 3. Influence of the anti-thyroid substances.

After this concise review of the steps of hormone-synthesis in the thyroid gland, we can now discuss the actions of the anti-thyroid substances. It is found that

these substances influence not one, but several parts of the hormone synthesis. We shall discuss them in succession.

(a) *Blockage of the iodide-concentrating action.*—Soon after the discovery of the anti-thyroid influence of the thiourea derivatives it was found that thyroids of animals treated with these substances show a decreased capacity to concentrate radio-iodides (FRANKLIN *et al.*<sup>1</sup>, RAWSON<sup>2</sup> *et al.*). Therefore many investigators thought that the blockage of the iodide concentrating action was the single specific action of the thiourea-derivatives.

Later on (VANDERLAAN and BISSELL<sup>3</sup>, VANDERLAAN and VANDERLAAN<sup>4</sup>, TAUROG<sup>5</sup> *et al.*, ROMELL<sup>6</sup>), however, it was observed that these substances had no influence at all on the concentrating action. The differing results of the earlier authors can be explained by the fact, found afterwards, that the iodide-concentrating action takes place very soon after injection of the iodides (see above), through which the thyroid is rapidly saturated with iodides. In the normal case the iodides are brought into the iodization process and then, bound in the thyreoglobulin secreted into the lumen of the follicle, so that new iodides can be concentrated. As we shall see, the thiourea derivatives block the iodization process. Therefore during treatment with these substances the iodides are not transported, and thus there need to be no renewed iodide-concentrating action.

In contrast to the thiourea derivatives the thiocyanates have an influence merely on the concentration process and not on the iodization process (WOLFF *et al.*<sup>7</sup>).

It can easily be seen that the availability of such specifically acting substances is of great importance for endocrinological research.

(b) *Blockage of the iodization process.*—As was explained above, the thiourea derivatives act by preventing the iodization process. No thyreoglobulin and thus no active hormone is formed.

As GRASSO<sup>8</sup> observed, however, the thyroid cell, independent of the added substances, produces an inactive globulin product. In the colloid this product is broken down to albumins with the help of the uninfluenced proteolytic enzyme. These albumins will be secreted into the blood vessels. Thus hormone production continues, but the product is inactive. GRASSO<sup>2</sup> and DEMPSEY<sup>9</sup> thought there was a relation between the block and the peroxidase system, which is probably

<sup>1</sup> E. W. DEMPSEY, *Endocrinol.* 34, 27 (1944).

<sup>2</sup> N. LUDWIG and P. v. MUTZENBECHER, *Z. Physiol. Chem.* 258, 195 (1939).

<sup>3</sup> P. FORMIJNE, *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam* 49, 484 (1946); *Ned. Tijdschr. Geneeskunde* 91, 1800 (1947).

<sup>4</sup> H. OKKELS, *C. r. Soc. Biol.* 116, 251 (1934).

<sup>5</sup> E. DE ROBERTIS, *Western J. Surg., Obst. Gyn.* 56, 253 (1948).

<sup>6</sup> I. GERSH, *J. End.* 6, 282 (1950).

<sup>7</sup> M. D. LEVINE, *J. End.* 6, 288 (1950).

<sup>1</sup> A. L. FRANKLIN *et al.*, *Endocrinol.* 34, 265 (1944).

<sup>2</sup> R. W. RAWSON *et al.*, *Endocrinol.* 34, 245 (1944).

<sup>3</sup> W. P. VANDERLAAN and A. BISSELL, *Endocrinol.* 38, 308 (1946).

<sup>4</sup> J. E. VANDERLAAN and W. P. VANDERLAAN, *Endocrinol.* 40, 403 (1947).

<sup>5</sup> A. TAUROG *et al.*, *J. Biol. Chem.* 171, 189 (1947).

<sup>6</sup> L. G. ROMELL, *Schweiz. med. Wschr.* 78, 810 (1948).

<sup>7</sup> J. WOLFF *et al.*, *Endocrinol.* 39, 140 (1946).

<sup>8</sup> R. GRASSO, *Anat. Rec.* 95, 365 (1946).

<sup>9</sup> E. W. DEMPSEY, *Endocrinol.* 34, 27 (1944).



responsible for the iodization. Most investigators are of the opinion that the block is correlated with an enzymatic process. Moreover, the hypothesis can be advanced against this that no enzymes are acting during hormone synthesis and blockage. FORMIJNE for example points to the following experiments *in vitro*: two solutions are made

(a) a solution of casein, bicarbonate and urea,

(b) a solution of casein, bicarbonate and thiourea.

After adding iodine to both solutions and waiting for some time, one can separate thyroxine out of the two solutions by extraction with butyl alcohol. In an actual experiment the first solution produced 32 mg, the second 3 mg.

WERNER<sup>1</sup> had showed already that iodine oxidizes the thiourea derivatives very easily. Whether one may reduce the processes in the living thyroid to such simple reactions or not forms a difficult problem. BAUMANN *et al.* made the following supposition: if the reaction described by WERNER takes place in the thyroid, it must be possible to prevent the goitre due to thiourea by giving a little more iodine than necessary to bind all the thiourea. They injected rabbits with thiourea and with a more than equivalent quantity of NaI every 4 hours over a period of 48 hours. Despite the iodide, symptoms of activation were observed. Therefore, according to BAUMANN, we must suppose that the thiourea derivatives act by blocking an enzyme system responsible for thyroxine formation.

(c) *Influence directly on TSH.*—RAWSON *et al.*<sup>2</sup> observed the following extremely important phenomenon in tissue cultures of thyroid: slices of normal rabbit thyroids were cultivated at 37°C in a tyrode-solution containing TSH. After 48 hours the analysed medium showed no TSH-activity at all. But after treating the inactivated medium with thiouracil or other anti-thyroid substances, the TSH-activity was shown to have been recovered. The anti-thyroid substances had no anti-thyroid influence in the concentrations used for reactivation of the TSH. Moreover, normal active hormone was shown to increase in stimulating capacity after treatment with anti-thyroid substances. This phenomenon is called hyperactivation. Therefore RAWSON *et al.* claim that anti-thyroid substances exercise an influence on the activity of TSH beside their action on the iodization process.

The investigations in this direction were continued by ALBERT<sup>3</sup> *et al.* Earlier it was stated that by treating TSH with elementary iodine most of the proteins of TSH were precipitated. The brown iodinated precipitate was shown to have lost 95–100% of its original activity. It was possible to remove 60% of the iodine with acetone, after which the rest again had its full TSH-activity.

ALBERT *et al.* observed that reactivation occurs also after treatment with different anti-thyroid substances, e. g. 2-thiouracil, 6-*n*-propyl-thiouracil, aminothiazole, and KSCN. As all these substances are reducing compounds, and as the recovery of the TSH-activity occurred immediately after the reduction of the iodine, loosely bound with the protein precipitate, other reducing substances having no anti-thyroid properties, were investigated too. And indeed ascorbic acid and sodium thiosulphate could partly restore activity, together with reduction of the bound iodine and reversal of the insolubility of the proteins. NaOH bleaches and dissolves the precipitate, but does not restore the activity. Further, the question whether reactivation was perhaps a hyperactivation of a small quantity of TSH that had escaped the iodine action was answered by ALBERT<sup>1</sup> *et al.* They observed that reactivation after treatment with anti-thyroid substances is much greater than after treatment with corresponding quantities of other reducing substances; e. g. vitamin C did not reduce sufficiently to restore the normal TSH-activity. Furthermore, it was shown that the increased TSH-activity after treatment with anti-thyroid substances still remained after removal of the reducing substances by dialysis. They observed also the peculiar phenomenon that KSCN, although restoring the TSH-activity, causes no hyperactivation. In this connection they point to the selective action of this anti-thyroid substance, namely blocking of the iodide-concentration and not of the iodization.

After these experiments *in vitro* ALBERT *et al.*<sup>2</sup> made a number of experiments *in vivo*. Injection of a definite quantity of TSH into chickens treated with thiouracil caused a significantly higher thyroid activity than in untreated controls receiving the same quantity of TSH. This can, of course, be explained by the block of the TH-synthesis in the first-mentioned animals, followed by a higher secretion of TSH by their own anterior pituitary. But in contradiction to this an iodized TSH-preparation (inactive in untreated chickens) was shown to be active in chickens treated with thiouracil.

It is obvious that such investigations can explain many of the processes, entirely mysterious up to a few years ago, that play a part in the hormone synthesis of the thyroid-cell. Especially the rôle of TSH has been greatly elucidated, as a few years ago we knew only that TSH increased thyroid activity.

But the observations relating to the rôle of iodine are also important. In medical practice a theoretically incomprehensible contradiction existed: treatment of hypothyroidal patients with the iodine-containing compound thyroxine together with treatment of hyperthyroidal patients with Lugol-solution (I-KI). It is possible that the inactivation of TSH by iodine plays a

<sup>1</sup> J. WERNER, Trans. Chem. Soc. 101, 2166 (1912).

<sup>2</sup> R. W. RAWSON *et al.*, Endocrinol. 39, Abstract 42 (1946).

<sup>3</sup> A. ALBERT *et al.*, Endocrinol. 40, 299 (1947).

<sup>1</sup> A. ALBERT *et al.*, Endocrinol. 40, 303 (1947).

<sup>2</sup> A. ALBERT *et al.*, Endocrinol. 40, 361 (1947).



part in the last-mentioned treatment. Not much can be said definitively on this subject, but we can hope that these questions too will be solved before long.

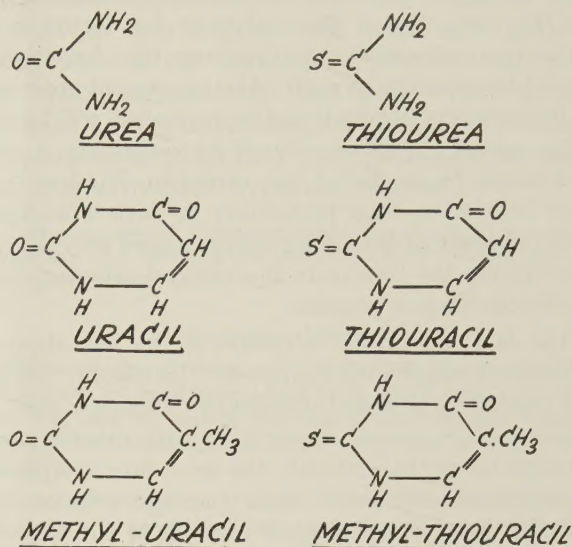
(d) *Influence on the bio-synthesis of nucleic acids.*—The supposed fourth influence is connected with the nucleic acids, which play such an important part in nuclear division and protein formation within the cells. These nucleic acids contain phosphoric acid, carbohydrates, and nucleotides. Two types of nucleic acids are distinguished: pentosenucleic acid and desoxypentose-nucleic acid (in the first the carbohydrate is pentose, in the second desoxypentose). Pentosenucleic acid contains nucleotides derived from guanidine, adenine, cytosine, and *uracil*, desoxypentosenucleic acid contains nucleotides derived from guanidine, adenine, cytosine, and *methyl-uracil*. It can easily be seen that many endocrinologists who had heard the names of two of the most important anti-thyroid substances: thiouracil and methyl-thiouracil, thought of a connection with these nucleic acids. The first was POUPA<sup>1</sup>, and he developed a special theory about the influence of the anti-thyroid substances. These were supposed to have, beside their central influence on the thyroid, a peripheral one on the body cells. He claimed that the body cells would assimilate thiouracil instead of uracil. He saw an analogy with the phenomenon that certain microbes assimilate instead of *p*-aminobenzoic acid the corresponding sulphur-compound sulphylic acid.

The same hypothesis can be found in a publication of LAUFER and STEWART<sup>2</sup>. They call the supposed action: "antibiotic". They point to the fact that ethyl- and propyl-thiouracil are less toxic than thiouracil. These substances differ from thiouracil and methyl-thiouracil in having the longer ethyl- and propyl-groups and, therefore, have no antibiotic influence.

RERABEK and RERABEK<sup>3</sup> are of the same opinion. They determined the contents of pentose- and desoxypentosenucleic acid in thyroids of rats, treated and untreated with methyl-thiouracil. It was found that after treatment the contents of both substances had only half the normal values. These facts speak for an antibiotic action. Against this conclusion we must raise an objection, namely that the authors have taken no account of the fact that the increase in weight of a thyroid gland after treatment with anti-thyroid drugs is caused not only by increase of the number of follicles, but often for the greater part by increase in vascularity and thus in blood-content.

Yet there are a number of investigations pointing to a real connection between nucleic acids and anti-thyroid substances. BEVELANDER<sup>4</sup> and SOBELS<sup>5</sup> ob-

served an influence on nuclear division in eggs of *Arbacia punctulata* and *Limnaea stagnalis* respectively treated with thiourea-solutions.



POUPA and JELINEK<sup>1</sup> studied the problem in another manner. They observed that yeast-ribonucleic acid accelerated the growth of tadpoles, without affecting metamorphosis. To make it possible to study the direct "antibiotic" effect of thiouracil on the nucleic acid synthesis these investigators<sup>2</sup> let yeast grow on a synthetic culture medium, to which thiouracil was added. The nucleic acid extracted from this yeast showed aberrant properties, seen notably in the fact that metamorphosis of tadpoles was actually retarded. Perhaps new investigations will throw more light upon these questions as well.

#### 4. Discussion

On the basis of the results of the investigations mentioned above we can conclude with certainty on what parts of the hormone synthesis in the thyroid cell the anti-thyroid substances act: namely the thiocyanates on the iodide concentration, and the thiourea-derivatives on the iodization and also on the activity of TSH. The last fact is often considered to be of secondary importance. For forming a good idea of the morphological alterations in the thyroid gland during treatment with anti-thyroid substances (viz. the enormous increase of histological activity—increase of cell height, colloid secretion, mitosis, blood content, and so on—), it is of the first importance to know that TSH is hyperactivated, and that a possible inactivation by iodine in the thyroid cells will immediately be repaired by the anti-thyroid substances.

Not only these facts, but many others also (e. g. the deficit of TSH in the urine of hyperthyroid persons and the

<sup>1</sup> O. POUPA, Sbornik Lekarsky 48, 219 (1946).

<sup>2</sup> L. LAUFER and E. D. STEWART, Science 105, 327 (1947).

<sup>3</sup> J. RERABEK and E. RERABEK, Acta physiol. Scand. 14, 276 (1947).

<sup>4</sup> G. BEVELANDER, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 61, 268 (1946).

<sup>5</sup> F. H. SOBELS, Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam 51, 900 (1948).

<sup>1</sup> O. POUPA and O. JELINEK, Biol. Listy 28, 40 (1947).

<sup>2</sup> O. POUPA and O. JELINEK, Lekarů českých. 87, 744 (1948).



increased content of TSH in urine of hypo- or athyroid persons) suggest that TSH is consumed by the thyroid cells during hormone synthesis. It is even thinkable that TSH is the protein factor besides iodine indispensable for the formation of thyroglobulin (cf. LEVER<sup>1</sup>). If after comprehensive investigations this hypothesis should be shown to be right, then the central processes of the hormone synthesis and its regulation will be not only explained, but even reduced to one process. As yet this cannot be concluded with certainty. The fact that it is possible to lend probability to such a working hypothesis with different arguments, shows very clearly that during the last years thyroid endocrinology has made considerable progress.

The last mentioned influence of the anti-thyroid substances, namely their supposed "anti-biotic" effect, has unlocked a new and specifically cytological field of exploration in thyroid research, as with this one may attempt to explain not only the secondary symptoms of treatment with these drugs (e. g. agranulocytosis), but also some morphological changes in the thyroid gland (RERABEK and RERABEK<sup>2</sup>). Against this idea we must raise several objections: in the first place, although there exists a direct chemical relation between uracil and thiouracil, and between methyl-uracil and methyl-thiouracil, this can hardly be extended to substances as aminothiazol, the thiocyanates, or the sulfonamides.

But we must raise an objection also against the hypothesis that the changes in cytological structure have to be ascribed to the anti-thyroid substances.

Before discussing this important question we must describe first some functions of the nucleic acids.

It is evident that these substances are indispensable for every form of protein synthesis in living cells, this process being chiefly located in the nucleus, as one of its most important functions. The desoxypentose-nucleic acid plays a considerable part at chromosome reproduction during mitosis: at the beginning of the prophase much of this substance becomes attached to specific loci of the polypeptide-chains forming the chromosome threads, and probably causes their shortening by spiralization, which causes the chromosomes to become visible after staining: maximum attachment coincides with maximum spiralization of the chromosomes at the end of the metaphase. The detachment of nucleic acids begins at the late anaphase and increases through the telophase, coinciding with despiralization of the chromosomes. In accordance with these facts, CASPERSSON<sup>3</sup> observed an increase in nucleic acid concentration during the earliest phases of the mitosis cycle and a decrease during the telophase.

The increased chromophily of the nucleus during the earliest phases of mitosis is caused by this increase of nucleic acid.

The quantity of desoxypentose-nucleic acid varies along the chromosome. It is always retained by specific parts; these parts form the heterochromatin, which is always visible in microscopic preparations. The function of heterochromatin is described by CASPERSSON<sup>1</sup> as follows: it secretes substances of a protein nature, showing pentose-nucleic reactions. These substances accumulate and form the main part of the nucleolus. From the nucleolus the pentose-nucleic acid diffuses towards the nuclear membrane, on the outside of which an intensive protein synthesis, located around pentose-nucleic acid-containing particles, takes place, through which the content of cytoplasmatic proteins increases.

During mitosis this heterochromatin again has an important function. After chromosome duplication, when both daughter chromosomes are lying side by side, protein synthesis at the heterochromatin probably causes dispersion of the chromosomes and thus the beginning of the anaphase (DARLINGTON<sup>2</sup>).

After this short review it is obvious that it is possible to reach several more physiological conclusions on the basis of morphological data, for example:

(a) On the basis of the size of the nucleoli one can say something about the quantity of synthesized pentose-nucleic acid and about the protein synthesis in cytoplasm.

(b) As both types of nucleic acids have about the same constituents, it is understandable that during mitosis, when much desoxypentose-nucleic acid is synthesized, no pentose-nucleic acid can be made: thus the nucleolus disappears during mitosis; conversely, if there are many mitoses one can conclude that few plasma proteins are formed.

(c) The relative frequencies of mitotic stages give a measure of their relative duration and of the content of desoxypentose-nucleic acid. If the content of desoxypentose-nucleic acid is high, e. g. in the nuclei, the duration of the prophase (during which the attachment of desoxypentose-nucleic acid to the unspiraled interphase-chromosomes takes place) can be short. An excess of desoxypentose-nucleic acid can cause the phenomenon of a nucleus failing to pass through the metaphase, since the chromosomes are overcondensed and clump together (e. g. the action of colchicine, KOLLER<sup>3</sup>).

(d) "The well-known staining of fixed nuclei with basic dyestuffs indicates the presence of liberated acid groups" (FREY-WYSSLING<sup>4</sup>).

<sup>1</sup> J. LEVER, *Onderzoekingen betreffende de schildklierstructur*, Thesis (Utrecht, 1950).

<sup>2</sup> J. RERABEK and E. RERABEK, *Acta physiol. Scand.* **14**, 276 (1947).

<sup>3</sup> T. CASPERSSON, *Skand. Arch. Physiol.* **73**, suppl. 8 (1936).

<sup>1</sup> T. CASPERSSON, *Symp. Soc. exper. Biol.* **1**, 127 (1947).

<sup>2</sup> F. S. DARLINGTON, *Endeavour* **8**, 51 (1949).

<sup>3</sup> P. C. KOLLER, *Symp. Soc. exper. Biol.* **1**, 270 (1947).

<sup>4</sup> A. FREY-WYSSLING, *Submicroscopic morphology of protoplasm and its derivatives*, p. 140 (Elsevier Co., Amsterdam, 1948).



(e) If the size of the nuclei in a tissue is smaller than normal, this often indicates a decreased protein synthesis.

RERABEK and RERABEK<sup>1</sup> gave cytological data about thyroid cells in connexion with the theory mentioned above that anti-thyroid substances would have an "antibiotic" influence on nucleic acid synthesis. They observed that the nuclei in thyroid cells of rats, after treatment with methyl-thiouracil, were larger, that the number of mitoses was increased, and that the number of cells in metaphase was higher than that of cells in other phases of mitosis, from which they concluded that metaphase was blocked.

A similar investigation (LEVER), also with application of other anti-thyroid substances, showed after 10–14 days of treatment of chickens that

(a) Low concentrations of these anti-thyroid substances (e.g. thiourea, thiouracil, methyl-thiouracil) cause an increase in nuclear size, but high concentrations cause a decrease again.

(b) The number of mitoses increases in direct relation to the concentrations of the drugs used.

(c) The number and size of the nucleoli decrease, from which it can be concluded that there is a decrease in synthesis of cytoplasmic proteins.

(d) The number of cells in metaphase in normal and in treated animals is higher than that of cells in prophase or ana-telophase; thus the duration of metaphase is longer than either prophase or ana-telophase in normal and in treated animals; moreover the desoxypentosenucleic acid content in the nuclei is high (short prophase).

On the ground of these facts one would like to conclude that anti-thyroid substances do indeed cause a number of characteristic alterations in the thyroid cells.

*But with repeated injections of TSH exactly the same results were obtained as those listed above under a–d (increase in nuclear size, decrease in number and size of the nucleoli, increase in the number of mitoses).*

From this we have to conclude that the alterations in the structure of thyroid cells found in animals treated

with anti-thyroid substances must be caused by the increased TSH-delivery of the hypophysis.

So the hypothesis that these substances have an "anti-biotic" action on nucleic acid synthesis (dependent on their relation with uracil and methyluracil, parts of the molecules of pentosenucleic acid and desoxypentosenucleic acid respectively) is not sustained by these morphological arguments. It is not necessary to reject this theory completely, but we must assume an attitude of scepticism towards it.

*Acknowledgement.*—I am greatly indebted to Mr. D. E. SERGEANT (Cambridge) and Mr. U. RAHM (Basel) for their valuable help in translating the manuscript.

### *Zusammenfassung*

Während des Krieges und nach dem Kriege wurden mittels zweier experimenteller Hilfsmittel (das radioaktive Jod und die antithyreoiden Stoffe) bei der Untersuchung der Schilddrüse sehr bedeutende Fortschritte erzielt.

Es ist jetzt möglich, bei der Hormonbildung folgende Prozesse zu unterscheiden: die Jodidkonzentrierung, die Thyreoglobulinbildung, die Thyreoglobulinspeicherung, die Thyreoalbuminbildung und die Thyreoalbuminabgabe.

Die antithyreoiden Stoffe beeinflussen mehrere Teile der Hormonbildung. Nacheinander werden besprochen: die Blockierung der Jodidkonzentrierung, die Hemmung des Jodierungsprozesses, die unmittelbare Wirkung auf das TSH (thyreoidstimulierendes Hormon) und die Wirkung auf die Biosynthese der Nukleinsäuren.

Die zuletzt erwähnte Auffassung wird ausführlich besprochen, weil sie neuerdings mehr und mehr beachtet wird.

Eine Untersuchung des Autors zeigte, daß nach Verabreichung verschiedener antithyreoider Stoffe in der Tat eine Anzahl charakteristischer Veränderungen in den Thyreoidzellen verursacht wurden (Kernvergrößerung, Verringerung und Verkleinerung der Nukleoli, zahlenmäßige Zunahme der Mitosen). Es stellte sich aber heraus, daß wiederholte Injektion von TSH genau dieselben Erscheinungen verursacht. Hieraus ergibt sich wieder, daß die Veränderungen, die unter dem Einfluß antithyreoider Stoffe in der Kernstruktur auftreten, durch erhöhte Absonderung von TSH durch die Hypophyse verursacht werden. Morphologisch betrachtet erhält die Theorie der «antibiotischen» Wirkung der antithyreoiden Stoffe bis jetzt noch keine Unterstützung.

<sup>1</sup> J. RERABEK and E. RERABEK, Acta physiol. Scand. 14, 276 (1947).



## Stumme Leistungen der Propriozeptivität

Von WERNER KOELLA<sup>1</sup>, Zürich

Die mannigfaltigen aktiven Bewegungen des tierischen und menschlichen Organismus im Rahmen der Auseinandersetzungen mit der Umwelt beruhen auf der Fähigkeit hoch spezialisierter Organe, der Muskeln, Spannungen zu erzeugen. Die zeitliche und räumliche Strukturierung der motorischen Phänomene ist Ausdruck einer entsprechenden *Ordnung* im Einsatz dieser Kräfte. Die Beherrschung der Muskelkontraktion nach Kraft und Zeit durch die zentralnervöse organisierende Apparatur ist die unerläßliche Voraussetzung für den motorischen Erfolg. Eine Bewegung ist nicht nur Ergebnis der *energetischen* Leistung der Muskeln, sondern zugleich der *koordinatorischen* Leistung des Zentralnervensystems. – Beim Hervorbringen zielsicherer Bewegungen spielt ein weiteres Funktionssystem eine entscheidende Rolle: die *Propriozeptivität*, das heißt die fortlaufende sensible Kontrolle der im Skelett-Muskel-System auftretenden Spannungen; die Gesamtheit all dieser Afferenzen läßt im organisierenden Substrat ein Bild der momentanen Situationen hinsichtlich der Stellung der einzelnen Körperteile zueinander und der Lage des Körpers im Raume entstehen. Diese gewissermaßen «hinter den Kulissen» sich abspielende Tätigkeit, diese «stumme Leistung» im Rahmen der *Sensomotorik*, soll im vorliegenden Aufsatz näher beleuchtet werden. –

Sind zwei Skeletteile durch ein Scharniergelenk miteinander verbunden, und beschränkt sich damit die Bewegung auf eine einzige (Raum-)Ebene, dann reicht ein einziges Muskelpaar aus, um alle Bewegungsmöglichkeiten erschöpfend auszunützen. Durch dosierte Abstufung der von den Muskeln produzierten Kräfte kann ein *Gleichgewichtszustand* bei verschiedenen Gelenkstellungen und durch Änderung der entwickelten Spannungen eine *Gelenkbewegung* herbeigeführt werden. Die organisatorische Tätigkeit besteht darin, daß ein zentralnervöses *Erregungsgebilde* formiert wird, das den beiden beteiligten Muskeln die entsprechende Innervationsenergie zufließen läßt. Die Organisation einer solchen Bewegung mit nur einem Freiheitsgrad ist auch insofern wenig kompliziert, als die *qualitative Wirkung* der kontraktiven Elemente unabhängig von der Ausgangsstellung ist, von der aus die Bewegung begonnen wird. Die Kontraktion des einen Muskels führt immer zur Beugung, diejenige des andern, des sogenannten Antagonisten, immer zur Streckung, ob nun das Gelenk stärker oder weniger stark gebeugt ist. Lediglich in *quantitativer* Hinsicht sehen wir eine Abhängigkeit der Kontraktionswirkung von

der Gelenkstellung, indem je nach der gegenseitigen räumlichen Lage der beiden beweglichen Teile der wirksame Hebelarm und damit das Drehmoment verschiedenen ist.

Komplizierter wird die Situation, wenn die gelenkige Verbindung zwischen zwei Körperteilen Bewegungen in zwei oder gar drei Raumebenen zuläßt. Für eine volle Ausnützung der motorischen Möglichkeiten sind dann mindestens zwei, bzw. drei Muskelpaare notwendig. Das *Wirbeltierauge* läßt uns solche Verhältnisse in besonders eindrucklicher und klarer Weise feststellen; der Augapfel ist nach Art eines *Kugelgelenkes* in der Augenhöhle gelagert; die dadurch ermöglichten Exkursionen nach Richtungen werden durch die in ihrer Anordnung selbst wieder die *drei Kardinalenen* repräsentierenden Muskelpaare hervorgerufen. Für jede der drei Bewegungsebenen besteht eine Mannigfaltigkeit von verschiedenen Positionen, wie man sie auch am einfachen Scharniergelenk feststellen kann. So lassen sich zum Beispiel zwischen den beiden seitlichen Extremstellungen durch dosierten Krafteinsatz der seitlichen Muskeln theoretisch unendlich viele Zwischenstellungen produzieren; beim Durchlaufen all dieser Positionen wird eine *horizontale Blicklinie* gleichsam abgetastet. Diese einfache Mannigfaltigkeit findet dadurch eine erste Erweiterung, daß sich zu jeder Deviation in Richtung der Horizontalebene (theoretisch) unendlich viele, durch den definierten Zug der oberen und unteren geraden Augenmuskeln herbeigeführte Bulbusstellungen entsprechend *vertikalen* Verschiebungen zuordnen lassen. Es kann – auch bei ruhigstehendem Kopfe – dank dieser Beweglichkeit ein ganzes *Blickfeld* bestrichen werden. Indem bei einer solchermaßen gegebenen Lage der Blickachse der Augapfel vermittle einer Wirkung der schrägen Augenmuskeln noch um seine Längsachse *rotiert* werden kann, sehen wir auch eine Bewegungsmöglichkeit in der dritten Raumebene realisiert. – Die momentane Lage des Bulbus ist Ausdruck eines Kräftegleichgewichtes. Durch eine im zeitlichen Verhalten beherrschte Veränderung der von den Augenmuskeln produzierten Spannungen kommt es zur Störung des Gleichgewichtes, damit zur Bewegung und schließlich zur Einnahme einer neuen Gleichgewichtslage. Die Aufgabe des zentralnervösen, organisierenden Substrates besteht darin, die den einzelnen Augenmuskeln zufließenden Innervationsströme im Hinblick auf das motorische Ergebnis – den Funktionserfolg – zu steuern. Die Möglichkeit einer *Kombination von Bewegungsvektoren* in den einzelnen Raumebenen bringt aber eine Kompliziertheit

<sup>1</sup> Physiologisches Institut der Universität Zürich.



zierung in organisatorischer Hinsicht mit sich, indem aus physikalischer Notwendigkeit mit jeder Lageveränderung des Augapfels sich die Zugwirkung der Augenmuskeln verschiebt. So sehen wir, daß der *Musculus rectus lateralis* bei Primärlage, das heißt bei Blick geradeaus, den Bulbus zur Seite wendet, also eine rein abduzierende Wirkung hat. Kontrahiert sich aber dieser selbe Muskel, wenn der Blick – in Abweichung von der Primärlage – nach oben gerichtet ist, dann tritt – auf Kosten der abduzierenden – auch eine rotatorische Komponente auf; mit zunehmender Hebung der Blickachse geht die abduzierende Wirkung immer mehr in eine rotierende über. Bei einer – nur theoretisch möglichen – Aufwärtsrichtung um  $90^\circ$  fehlt die Wendewirkung ganz, und der Abduzens ist zum reinen Rotator geworden. Entsprechend liegen die Verhältnisse, wenn zum Beispiel das Auge aus einer Wendestellung unter dem Einfluß des oberen *M. rectus* nach oben gerichtet wird. Komplizierend wirkt sich dazu noch aus, daß die geraden Augenmuskeln, also die vier *Mm. recti*, nicht am Äquator des Bulbus, sondern etwas nach vorne verschoben ansetzen, was zur Folge hat, daß sich der Ansatz, zum Beispiel des *M. rectus lateralis*, *seu abducens*, bei Aufwärtsdrehung des Bulbus um die durch den Mittelpunkt verlaufende und den Äquator schneidende Achse ebenfalls um einen bestimmten Betrag nach oben verschiebt. Kontrahiert sich nun der genannte Muskel, dann gesellt sich zur abduzierenden und rotierenden Wirkung noch eine Hebekomponente. In Abbildung 1 sind diese Verhältnisse an Hand einer Skizze dargestellt. Eine Kontraktion des *Musculus abducens* bei Ausgangsstellung mit Blick nach oben wirkt sich demnach nicht im Sinne einer reinen Seitwärtswendung aus; diese Muskelaktion hat daneben noch eine weitere Hebung der Blickachse und eine Raddrehung des Bulbus zur Folge. Wenn wir trotzdem eine *zielsichere Bewegung* der Augen auch aus Sekundärlagen heraus beobachten, dann bedeutet dies, daß – beim konkret ins Auge gefaßten Beispiel mit Blickrichtung nach oben – mittels einer zusätzlichen Kontraktion des *M. rectus inferior* und des *M. obliquus inferior* diese unerwünschten hebenden und rotatorischen Kräftekomponenten unwirksam gemacht werden. Daß im Sinne der tatsächlich bestehenden Bewegungspräzision diese kompensierenden Muskelaktionen auf die Größe der störenden Komponenten abgestimmt sein müssen, entspricht – wie aus den vorausgeschickten, auf W. R. HESS zurückgehenden Erörterungen erhellt (1,2) – einem unbedingten, das heißt sich aus physikalischer Notwendigkeit ergebenden Sachverhalt. – Je nach der Ausgangsstellung ist somit zur Erzielung eines definierten Bewegungseffektes das Innervationsdiapositiv für die Augenmuskeln sehr verschieden. Die momentane Bulbuslage übt auf das die Augenbewegung potentiell repräsentierende und den konkreten motorischen Effekt auslösende zentrale Erregungsgebilde einen formenden Einfluß aus.

Diese Einflußnahme führt verständlicherweise zu einer Erweiterung und Komplizierung der organisatorischen Aufgabe. Wie diese im Sinne einer einfach zu realisierenden Lösung bewältigt werden kann, hat vor einigen Jahren W. R. HESS am konkreten Beispiel jenes motorischen Phänomens dargelegt, das sich beobachten läßt, wenn im seitlichen Gesichtsfeld ein Außenweltobjekt, zum Beispiel ein leuchtender Punkt, auftaucht<sup>1</sup>. Bei dieser Situation wird automatisch eine Blickbewegung im Sinne einer Zuwendung des Auges ausgelöst. (Eineparallele, unterstützende Kopfdrehung, eventuell gar eine Rotation des ganzen Körpers soll hier zur Vereinfachung vernachlässigt werden.) Dadurch bekommt das Reizobjekt, das sich primär nur auf periphere Netzhautbezirke projiziert hat, eine derartige räumliche Beziehung zum Sehorgan, daß es

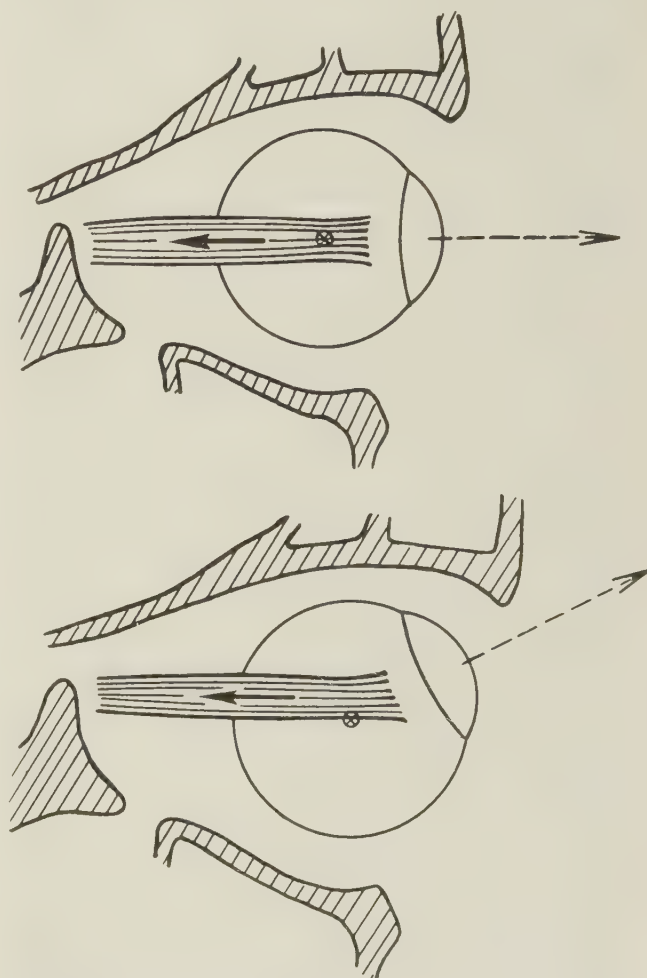


Abb. 1. Rechter Bulbus von rechts gesehen. Oben in Primärlage, unten Blick nach oben gerichtet. Man erkennt, daß durch den Lagewechsel des Bulbus der Ansatz des *Musculus abducens* nach oben verschoben wird, was mit einer Veränderung der Wirkungsweise einhergeht. Zur abduzierenden Wirkung tritt noch eine Hebekomponente (da der Ansatz über dem Drehpunkt liegt) und eine rotatorische Komponente, indem die Augenachse nicht mehr parallel der Zugrichtung verläuft [Aus HESS, Die Motorik als Organisationsproblem, Biol. Zbl. 61, 545 (1941)].

<sup>1</sup> W. R. HESS, Biol. Zbl. 61, 545 (1941); Naturwissensch. 30, 441 und 537 (1942).



im Zentrum der Retina, an der Stelle optimalen Auflösungsvermögens, abgebildet wird. Dieser Reflexvorgang wurde übrigens in der Folge noch durch zentrale Reizversuche weiter analysiert und als «visueller Greifreflex» bezeichnet (HESS<sup>1</sup>, HOESSLY<sup>2</sup>, AKERT<sup>3</sup>). In Anwendung der eben entwickelten bewegungsmechanischen Verhältnisse muß gefolgert werden, daß dieses Reflexgeschehen nicht an ein starres Schema gebunden sein kann. Wäre nämlich die mediale Netzhautpartie (die dem lateralen Gesichtsfeld, wo wir das Reizobjekt angenommen haben, entspricht) starr mit dem *M. rectus lateralis* assoziiert, dann könnte wohl aus einer Primärlage des Bulbus heraus der dargestellte Reflexablauf ohne weiteres funktionieren und der Blick mittels einer entsprechenden Augenbewegung auf das reizende Objekt hingewendet werden. Wird aber dasselbe periphere (im konkreten Beispiel das mediale) Netzhautareal bei Sekundärstellung, zum Beispiel bei Blickrichtung nach oben, gereizt, dann führt eine feste funktionelle Koppelung zwischen diesem Netzhautbezirk und dem *M. rectus lateralis* zur motorischen Fehlleistung; das Außenweltobjekt wird durch die Blickbewegung verfehlt. Die reflexauslösende Erregung der selben Netzhautpartie muß in diesem Falle nicht nur die latenten Kräfte des *M. abducens*, sondern auch – wie weiter oben entwickelt wurde – diejenigen des *M. rectus inferior* und *obliquus inferior* aktivieren. In Anpassung an die momentane Situation muß der Impulsstrom so *gelenkt*, das heißt, das zentrale Erregungsgebilde so geformt werden, daß die der *adäquaten Bewegungsstruktur* zugrunde liegende *Ordnung* im Einsatz der Augenmuskeln schon potentiell resultiert. Den in den Augenmuskeln durch Spannungen und im Bulbuslager durch Druckwirkungen entstehenden Afferenzen – zusammenfassend als orbitale propriozeptive Afferenzen bezeichnet – kommt die Aufgabe zu, diese «Lenkung» der Impulse in Anpassung an die periphere Situation vorzunehmen; dieses Postulat führt zum Begriff des *gelenkten Reflexes*. Wie man sich die funktionelle Verbindung der einzelnen Repräsentanten vorzustellen hat, sei an Hand der beigegebenen Zeichnung (Abb. 2), die wir der zitierten Arbeit von HESS entnehmen, erläutert.

Die Auffassung, daß auf diese Weise die orbitale Propriozeptivität einen integralen Bestandteil im funktionellen motorischen Gefüge darstellt, erhält eine kräftige Stütze durch neueste Befunde von COOPER, DANIEL und WHITTERIDGE<sup>4</sup>; diese Autoren konnten durch Ableitung von Aktionsströmen in den peripheren Stümpfen der durchschnittlichen Augenmuskeln zentralwärts wandernde Impulse nachweisen. Durch die

Feststellung, daß diese Impulsfrequenz eine strenge funktionelle Abhängigkeit vom (passiven) Spannungszustand der entsprechenden Augenmuskeln aufweisen, wurde der Beweis erbracht, daß es sich tatsächlich um propriozeptive Afferenzen handelt.

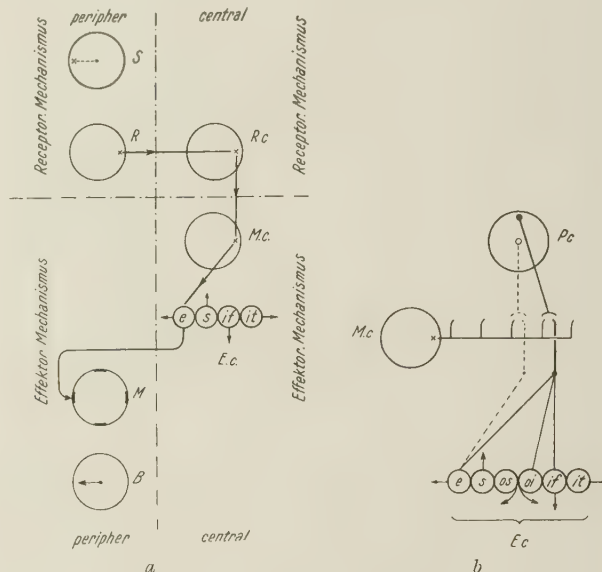


Abb. 2a. Schema des Reizweges bei Blickbewegungen: linkes Auge nach links (orientiert nach der Blickrichtung!). Bei *x* erscheint ein Reizobjekt im temporalen Sehfeld *S*. Es projiziert sich (optisch) in den nasalen Abschnitt des Rezeptorensystems *R* (Retina). Durch Verbindung entsteht ein korrespondierender Erregungsherd der zentralen Vertretung des Rezeptorensystems *Rc*. – In den Prozeß wird einbezogen der richtungsmäßig analog organisierte zentrale motorische Richtapparat («Richtfeld») *Mc*, entsprechend bestehenden Verbindungen auch die zentralen Repräsentanten der Effektoren *Ec* (= Kerne bzw. Kernsektoren der Augenmuskeln; *e* = *R. ext.*; *s* = *R. sup.*; *it* = *R. inf.*; *it'* = *R. int.*). Es werden Kräfte des *Rectus externus*, als Glied des Effektorensystems, mobilisiert. – Das Auge wendet den Blick nach links und erfaßt optisch das Reizobjekt. Dieser Mechanismus spielt nur treffsicher aus primärer Augenstellung, das heißt von Blick geradeaus. – Es sind nur die geraden Augenmuskeln berücksichtigt [aus W. R. Hess, Biol. Zbl. 61, 545 (1941)].

Abb. 2b. Motorische Beherrschung des Blickfeldes im Sinne doppelter Mannigfaltigkeit: Schema der auswählenden Reizübertragung (durch Zwischenschaltung eines «Wahlorgans»). – *Mc* motorischer Richtapparat wie in Abbildung 2a. Der vom Rezeptorensystem mitgeteilte Impuls hat hier aber durch Aufzweigung des Erregungsträgers potentielle Beziehungen zu mannigfaltigen Muskelkombinationen. Die wahlweise Aktivierung einer bestimmten Potenz ist durch die Position des Augapfels bestimmt. – Im Schema ist (wie in Abbildung 2a) Wendung nach links induziert; die gestrichelte Linie zeichnet den Weg des Impulses bei Primärstellung des Auges; es wird ausschließlich der *Rectus externus* mobilisiert. Die ausgezogene Linie zeichnet den Weg des Impulses, wenn der Wendereiz bei aufwärts blickendem Auge auftritt; der Impuls wird konform der veränderten Zugrichtung des *R. ext.* verteilt. Seine Hebekomponente (Abb. 1) wird durch den *R. inf.* (*it*) kompensiert, die rotatorische Komponente durch den *Obl. inf.* (*oi*). Die Resultante ist nun wieder reine Linkswendung. In Wirklichkeit werden auch die respektiven Antagonisten (reziprok) einbezogen, überhaupt in jedem Falle der Muskelapparat als Ganzes im Sinne einer dynamischen Einheit. – Die Effektorrepräsentanten *e*, *s* usw. sind durch Pfeile einzeln gekennzeichnet [aus W. R. Hess, Biol. Zbl. 61, 545 (1941)].

<sup>1</sup> W. R. HESS, Helv. physiol. acta 4, C 3 (1946). – W. R. HESS, S. BÜRG und V. BUCHER, Mschr. Psychiatr. und Neurol. 112, 1 (1946).

<sup>2</sup> G. F. HOESSLY, Helv. physiol. acta 6, 333 (1948).

<sup>3</sup> K. AKERT, Helv. physiol. acta 7, 112 (1949).

<sup>4</sup> S. COOPER, P. M. DANIEL und D. WHITTERIDGE, J. Physiol. 108, 41 P (1949).

Bei diesem Stand der Kenntnisse hatten wir es unternommen, in einer Reihe von Versuchsserien am Kaninchen den am visuellen Greifreflex entwickelten Begriff des gelenkten Reflexes an einem andern Beispiel experimentell darzulegen. Als geeignet erschien uns in



dieser Hinsicht die vom *Vestibularapparat* ausgelöste Augenmotorik. Im Rahmen dieser vestibulären Reflexe richteten wir unser Augenmerk speziell auf den sogenannten *Augennystagmus*, jene pendelnde Bewegung der Bulbi, die dann in Erscheinung tritt, wenn das Versuchstier (oder der Mensch) in Rotation versetzt, oder wenn es nach länger dauernder Rotation brüsk abgebremst wird. Diese rhythmische Bewegung, die eine langsame und eine rasche Phase unterscheiden läßt, muß in den Rahmen der sogenannten ereismatischen Motorik eingegliedert werden, das heißt in die Gruppe der Bewegungserscheinungen, denen die Funktion obliegt, für die Zielbewegungen den notwendigen basodynamen Unterbau zu liefern (HESS<sup>1</sup>). Der offensichtliche Zweck der langsamen (der Rotation entgegengerichteten) Phase beim perrotatorischen oder Andrehnystagmus besteht darin, daß damit die Beziehung des Sehorgans zur Umwelt aufrechterhalten und somit eine optische Orientierung gewährleistet wird. Bei der passiven Stellungsänderung des Körpers im Raume wird sprunghaft immer wieder ein neues Umweltobjekt optisch erfaßt und so lange fixiert, bis die mechanischen Verhältnisse, das heißt die Größe des maximalen Bewegungsausschlages, ein weiteres «Hängenbleiben» verhindern.

Der Nystagmus wird – basierend auf den bekannten Untersuchungen von MACH<sup>2</sup>, BREUER<sup>3</sup>, EWALD<sup>4</sup>, STEINHAUSEN<sup>5</sup> u. a. – auf eine Reizung der Bogengangampullen im inneren Ohr zurückgeführt. Dank der Trägheit macht die die häutigen Bogengänge ausfüllende Endolymph bei Drehbeschleunigungen zunächst die Bewegung nicht mit, bzw. sie hat das Bestreben, bei negativen Beschleunigungen, das heißt beim Abbremsen, weiterzufließen. In beiden Fällen entsteht eine kurzdauernde Endolymphströmung, die eine windfahnenartig in das Bogengangslumen hineinragende Lamelle, die *Cupula*, zur Seite drückt. Damit werden die in die *Cupula* hineinragenden Sinneshaare verbogen und derart die dort entspringenden Nerven erregt. Ist die Rotationsachse vertikal, so liegt bei Normallage der horizontale Bogengang jeder Seite in der Drehebene, die beiden andern – vertikalen – Halbzirkelkanäle stehen senkrecht darauf; das Drehmoment kann in diesen beiden Kanälen keine Endolymphströmung hervorrufen. Der dann in Erscheinung tretende horizontale Nystagmus wird somit durch eine alleinige Reizung der horizontalen Bogengangampulle ausgelöst. Wird das als Versuchstier dienende Kaninchen in einer von der Normallage abweichenden Stel-

lung, zum Beispiel mit erhobenem Kopfe, rotiert, dann ist ein hinsichtlich seiner Schlagebene immer noch der horizontalen Rotationsebene entsprechender, aber bezogen auf die Lidspalte nun schiefer (oder diagonal) Nystagmus zu beobachten; er ist – nach der Hypothese von MACH (l. c.) – auf ein kombiniertes Erregungsgebilde aus den horizontalen und vertikalen Bogengängen zurückzuführen.

Eine weitere Gruppe von vestibulär ausgelösten motorischen Phänomenen, die in unseren hier referierten Untersuchungen eine wichtige Rolle spielen, sind die sogenannten *tonischen Reflexe*. Sie treten zum Beispiel in Erscheinung, wenn das Versuchstier, von der Normallage ausgehend, langsam mit dem vorderen Pol gehoben wird. Man kann unter solchen Umständen feststellen, wie die (seitlich liegenden) Bulbi eine Gegendrehung, eine sogenannte *Raddrehung*, ausführen, welche die passive Lageänderung des Kopfes wenigstens bei kleineren Exkursionen soweit kompensieren, daß der Bulbus seine Stellung relativ zur Lotrichtung beibehält. Eine analoge Reaktion kommt zustande, wenn der Körper des Tieres mitsamt dem Kopfe eine passive Lageänderung um die Längsachse mitmacht; die kompensatorische Reaktion an den Bulbi tritt dann in Form eines Hebens, bzw. Senkens der Hornhaut auf. Die Bewegung der Augäpfel erfolgt also immer um eine Achse, die parallel zu jener liegt, um welche das Tier gedreht wird. Diese tonischen Reflexe werden in den sogenannten *Otolithenapparaten* des Innenohres ausgelöst; es handelt sich um kleine Felder von Sinnesepithel in den *Utriculi* und *Sacculi* – kleinen bläschen- bzw. sackartigen Gebilden – die von einer gallertigen, mit anorganischen Einlagerungen durchsetzten Masse – der Otolithenmembran – bedeckt sind. Bei geradlinigen Beschleunigungen kommt es zu einer kleinen Verschiebung dieser gegenüber der Endolymph etwas spezifisch schwereren Masse, damit zum Auftreten von Scheerkräften gegenüber dem Sinnesepithel und schließlich zu einer Reizung der Sinneshaare. – Diese kurze Charakterisierung der vestibulären Reaktionen dürfte genügen, um die nachfolgenden Erörterungen auch dem nicht näher Eingeweihten verständlich zu machen. Für mehr ins einzelne gehende Aufschlüsse verweisen wir auf zusammenfassende Darstellungen von MAGNUS und DE KLEYN<sup>1</sup>, FISCHER<sup>2</sup>, WERNER<sup>3</sup> und LORENTE DE NÒ<sup>4</sup>.

Es wurde eben erwähnt, daß nach der hergebrachten Auffassung ein horizontaler Nystagmus durch eine Reizung der horizontalen Bogengänge, ein Nystagmus aber, dessen Schlagebene gegenüber der Lidspalte schief steht, durch eine kombinierte Reizung der horizontalen und vertikalen Bogengänge ausgelöst wird.

<sup>1</sup> W. R. HESS, *Der Nervenarzt* 15, 457 (1942); *Helv. physiol. acta* 1, C 62 (1943).

<sup>2</sup> E. MACH, *Grundlinien von der Lehre* usw. (Engelmann, Leipzig 1875).

<sup>3</sup> J. BREUER, *Wien. Med. Jb.* Heft 1 (1875); *Pflügers Arch.* 68, 596 (1897).

<sup>4</sup> J. R. EWALD, *Physiologische Untersuchungen über das Endorgan* usw. (Bergmann, Wiesbaden 1892).

<sup>5</sup> W. STEINHAUSEN, *Arch. Ohren-, Nasen- und Kehlkopfheilk.* 132, 134 (1932).

<sup>1</sup> R. MAGNUS und A. DE KLEYN, *Hdb. der normalen und path. Physiol.*, Bd. XI (1926).

<sup>2</sup> M. H. FISCHER, *Hdb. der normalen und path. Physiol.*, Bd. XI (1926); *Die Regulationsfunktionen* usw. (Bergmann, München 1928).

<sup>3</sup> C. F. WERNER, *Das Labyrinth* (Thieme, Leipzig 1940).

<sup>4</sup> R. LORENTE DE NÒ, *Erg. Physiol.* 32, 73 (1931).



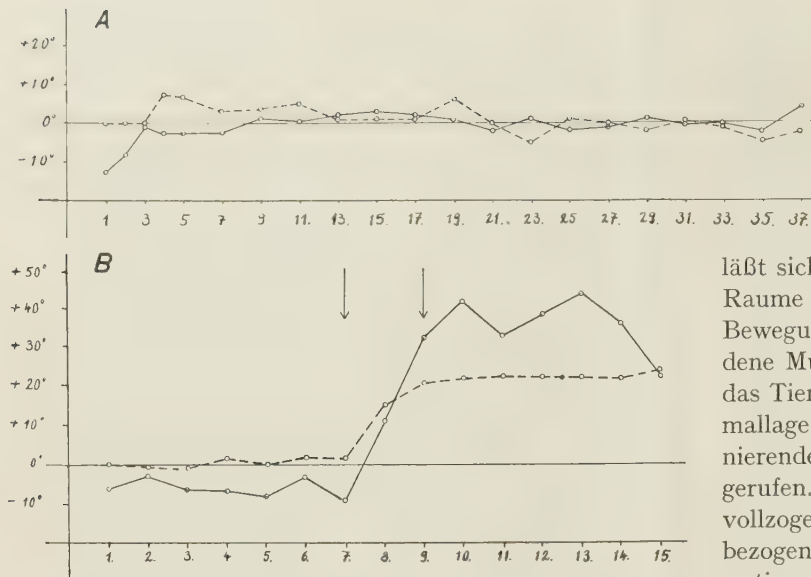


Abb. 3. A: Lage der Schlagebene und des horizontalen Halbmeridians nach Drehen während einer Minute und nachherigem Stoppen ohne Kippung. — — — = horizontaler Halbmeridian ( $0^\circ$  = horizontale Lage in Bezug auf Lidspalte). — = Schlagebene; Lage in Bezug auf Lidspalte. B: Schlagebene und Stellung des horizontalen Halbmeridians beim Nachnystagmus nach einer Kippung um  $30^\circ$  in der Sagittalebene. Man beachte die Drehung von Schlagebene und Meridian.

[aus W. KOELLA, Helv. Physiol. Acta 5, 154 (1947)].

In unseren Versuchen hatte sich nun aber gezeigt, daß diese relativ einfache Konzeption einer Erweiterung bedarf. Es ergab sich nämlich, daß, wenn durch länger dauernde Rotation mit nachfolgender Abbremsung ein horizontaler Nystagmus hervorgerufen wird und das Kaninchen – während dieser Nystagmus im Gange ist – um einen definierten Winkel  $\alpha$  in der Sagittalebene gekippt wird, die Nystagmusschlagebene eine Drehung relativ zur Lidspalte ausführt. Das Ausmaß dieser (Gegen-)Drehung ist gerade so groß, daß der Nystagmus trotz der Lageänderung des Tieres horizontal im Raume bleibt<sup>1</sup>. Dieser Sachverhalt bedeutet, daß die durch die Abbremsung der Normallage ausgelöste Erregung der horizontalen Bogengangsamputen nicht nur einen horizontalen Nystagmus, sondern einen – auf die Lidspalte bezogen – schiefen Nystagmus herbeiführen kann (Abb. 3). Von den horizontalen Bogengangsamputen wird demnach die Nystagmusschlagebene noch nicht eindeutig festgelegt. Erst durch die Einwirkung eines zusätzlichen Faktors, nämlich die Lage des Versuchstieres relativ zur Lotlinie, wird das richtungsmäßige Verhalten des Nystagmus definitiv bestimmt. Offenbar spielen Afferenzen von seiten der Otolithenorgane, also jener Apparate, die das Verhältnis zur Schwerkraft zu rezipieren imstande sind, die Rolle dieses richtungsweisenden Faktors.

Damit kommen wir zur Frage, wie wir uns die Wirkungsweise dieser zusätzlichen Faktoren vorzustellen

haben. Die Situation ist prinzipiell dieselbe wie beim visuellen Greifreflex. Auf Grund eines definierten Reizes – in jenem Falle war es ein peripher auftauchendes Licht, hier ist es eine zirkuläre Beschleunigung – wird eine Augenbewegung induziert, deren auf die Umwelt bezogene Richtung festgelegt ist; im konkreten Fall

läßt sich bei verschiedenen Situationen immer der im Raume horizontale Nystagmus beobachten. Für diese Bewegung müssen je nach Ausgangsstellung verschiedene Muskelkombinationen in Tätigkeit treten. Liegt das Tier horizontal, das heißt, befindet es sich in Normallage, dann wird diese Bewegung durch ein alternierendes Kontrahieren der seitlichen Muskeln hervorgerufen. Hat es aber seinen (passiven) Lagewechsel vollzogen, dann müssen sich an der – auf die Lidspalte bezogen – nun schiefen Bewegung auch noch die *Mm. recti superior* und *inferior* beteiligen. Der diagonale Bewegungsablauf ist auf eine gemeinsame Wirkung des *M. rectus lateralis* und *superior*, bzw. *medialis* und *inferior* zurückzuführen. Anlaß zu dieser Änderung im Erregungsdispositiv gibt die veränderte Ausgangslage, das heißt die veränderte Raumstellung des Tieres, wobei die entsprechenden Erregungen aus den «Schwererezeptoren», das heißt den Otolithenorganen, aus einer Großzahl von zentralen Dispositiven jenes «auswählen», das der momentanen Schiefelage insofern gerecht wird, als es einen im Raume horizontalen Nystagmus hervorruft. Auch an diesem Beispiel zeigt sich damit das Prinzip des gelenkten Reflexes als die einfachste Lösung. Abbildung 4, die aus einer kürzlich publizierten Arbeit stammt<sup>1</sup>, sei zur Illustrierung des Gesagten beigegeben.

Allerdings wurde hier vorerst noch eine wichtige Tatsache außer acht gelassen, welche zwar im Prinzip nichts ändert, die Sachlage aber kompliziert. Es zeigt sich nämlich, daß das Auge auch während des Nachnystagmus beim Lagewechsel des Tieres eine kompensatorische Raddrehung ausführt; die Wirkung der einzelnen Augenmuskeln entspricht also – wie früher erläutert – nicht mehr derjenigen bei Normallage. Wir haben in der eben zitierten Arbeit<sup>1</sup> diese Komplikation eingehend diskutiert, und wir möchten hier, wo es uns mehr um prinzipielle Belange geht, auf eine nochmalige Darstellung verzichten und nur das Ergebnis dieser Erörterungen festhalten. Man kommt zum Schluß, daß auch hinsichtlich der veränderten Bulbuslage die periphere Situation – wiederum als Ausdruck einer Leistung der Propriozeptivität – zentralwärts übermittelt wird; das definitive Innervationsdispositiv erweist sich damit auch hier nicht als ein starres Gebilde; seine dynamische Struktur paßt sich den gegebenen Verhältnissen bezüglich der jeweiligen Muskelwirkung an. Aus einer großen Zahl von Möglichkeiten wird unter dem len-

<sup>1</sup> W. KOELLA, Helv. Physiol. Acta 5, 154 (1947).

<sup>1</sup> W. KOELLA, Vjschr. naturf. Ges. Zürich, Beiheft 1 (1950).



kenden Einfluß der orbitalen Propriozeptivität jene konkrete Konstellation «ausgewählt», die die ziel-sichere Bewegung – im konkreten Fall den im Raume horizontalen Nystagmus – gewährleistet. Damit sehen wir ein zweites Mal das Prinzip des *gelenkten Reflexes* realisiert. Abbildung 5 stellt die Verhältnisse bei Berücksichtigung dieser Erweiterung wiederum in Form eines Funktionsschemas dar.

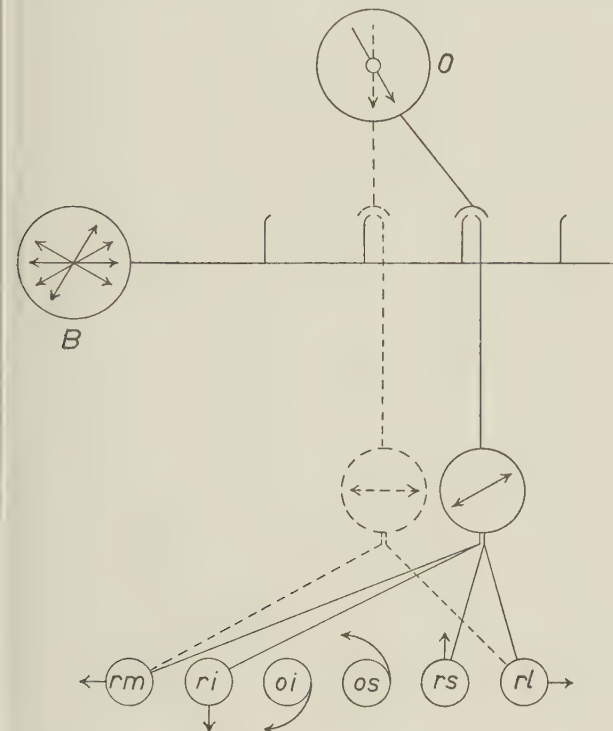


Abb. 4. Funktionsschema betreffend Organisation des Nystagmus bei verschiedenen Stellungen des Tieres im Schwerfeld. Die schrägen Augenmuskeln sind durchschnitten. In der zentralen Repräsentation B des Bogengangapparates kommt es zum Erregungsgebilde «Nystagmus», wobei hinsichtlich der Schlägebene noch eine Vielzahl von Möglichkeiten besteht. Aus dieser Vielzahl wählt die zentrale Repräsentation O der Schwererezeptoren den für die momentane Raumstellung adäquaten Nystagmus aus und setzt die entsprechenden Muskeln ein. Gestrichelt: Erregungsweg bei Horizontallage; ausgezogen: Erregungsweg bei Stellung vorne-hoch [aus W. KOELLA, Vjschr. Naturf. Ges., Zürich, Beiheft 1 (1950)].

Die vestibulären Reflexe lassen damit eine *Gliederung in einzelne Ebenen* von verschiedener funktioneller Bedeutung erkennen. Die Ausschaltungsexperimente von MAGNUS<sup>1</sup> einerseits und die Hirnreiz- und Ausschaltungsversuche von HESS<sup>2</sup> andererseits geben uns willkommene Gelegenheit, diese Gliederung noch kurz von einer andern Seite her zu beleuchten. Wie HESS in einem kürzlich publizierten Aufsatz<sup>3</sup> auch schon dargelegt hat, mag es primär als Widersprucher-scheinen, wenn durch feinst dosierte Reizung im Zwischenhirn motorische Effekte erzielt werden können, die als reizbedingte

Gleichgewichtsverschiebungen im vestibulären System interpretiert werden müssen, und MAGNUS nach Ausschaltung des Thalamus, also bei Mittelhirntieren, noch alle vestibulären sogenannten Stell- und Stehreflexe feststellen konnte. Ausgehend von unseren Versuchsergebnissen, kommen wir – wie HESS – zur Auffassung, daß hier eine Frage «ob oder ob nicht», fehlt am Platze ist; es geht nicht darum, ob eine bestimmte Reaktion nach Ausschaltung definierter Areale überhaupt noch ausgelöst werden kann oder nicht, sondern *wie* sich diese Reaktion präsentiert. Es handelt sich um ein Problem quantitativer und qualitativer Abstufung in der funktionellen Bedeutung der verschiedenen Hirnareale. So sind die Effekte, die MAGNUS beobachtete – unter anderem auch den Nachnystagmus – Ausdruck einer relativ direkten, undifferenzierten Wirkung von seiten des Vestibularapparates auf die Augenmuskula-

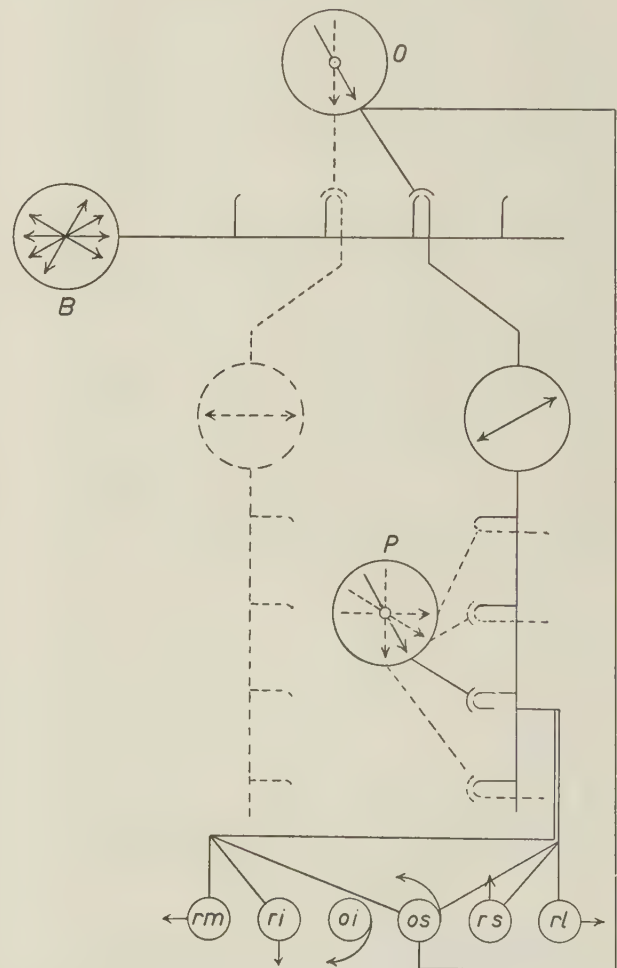


Abb. 5. Funktionsschema betreffend Organisation des Nystagmus bei intakten Augenmuskeln. Hier ist durch Einwirkung der Schwererezeptoren schon eine Raddrehung der Bulbi erfolgt. Die zentrale Nystagmuserregung findet somit veränderte Zugwirkungen der Augenmuskeln. Durch Vermittlung der zentralen Repräsentation P der Propriozeptivität aus der Orbita wird diesen veränderten Verhältnissen im Dispositiv der Effektoren in qualitativer und quantitativer Hinsicht Rechnung getragen. Dem Schema liegen die Verhältnisse bei einer Stellung vorne hoch zugrunde (aus W. KOELLA, wie Abbildung 4).

<sup>1</sup> R. MAGNUS, *Körperstellung* (Springer, Berlin 1924).

<sup>2</sup> W. R. HESS, *Helv. physiol. acta*, Suppl. V, 1948. – W. R. HESS und E. WEISSCHEDEL, *Helv. physiol. acta* 7, 451 (1949).

<sup>3</sup> W. R. HESS, *Exper.* 7, 51 (1951).



tur. Auf dem Wege dieses tiefen Reflexbogens käme es zu primitiven Sofortreaktionen. Die feine Verarbeitung aber, die Einflußnahme zusätzlicher Afferenzen aus den Schwererezeptoren, aus der Augenhöhle und noch weiteren reflexogenen Zonen, die wir in diesem Rahmen nicht berücksichtigt haben, erfolgt auf höherer Ebene. Die Funktionsschemata in den Abbildungen 4 und 5 lassen erkennen, daß mit dem Auftreten dieser zusätzlichen «Wahlorgane» (HESS) als zentrale Repräsentanten reflexogener Zonen für das ganze Funktionssystem eine erheblich größere räumliche Entfaltung beansprucht wird, so daß offensichtlich auch bei maximalster Platzökonomie im Engpaß des Mittelhirnes nicht Raum genug vorhanden ist. So gibt erst die Ausweitung des ganzen Systems in das volumenmäßig wesentlich größere Zwischenhirn die Möglichkeit einer Überbauung der primitiven Reflexe durch eine die Präzision steigernde und damit den funktionellen Wert erhöhende Apparatur. –

Wenn unsere Ausführungen sich auf die Augenmotorik und die vestibulären Reflexe beschränkten, so bedeutet das nicht, daß die hier entwickelten Funktionsprinzipien sich nur auf diese Systeme beziehen sollen. Wir haben dieses Objekt für die Darlegung und auch für die Experimente gewählt, weil – dank anatomischer und physiologischer Besonderheiten – relativ einfache und gut verständliche Verhältnisse vorliegen. Wir sind aber der Auffassung, daß diese Funktionsprinzipien für die gesamte Motorik Gültigkeit haben. Für eine zielsichere Bewegung – besonders wenn sie Ausdruck einer Wirkung einer Großzahl von Einzelkräften ist – muß die Ausgangssituation bei der Gestaltung des zentralen Erregungsgebildes eine ausschlaggebende Rolle spielen. Damit ist die große Bedeutung der «stummen Leistung» der Propriozeptivität für jegliches motorische Geschehen charakterisiert.

### Summary

1. Motor functions of the eye serve to illustrate movement as a resultant of muscle actions regulated in regard to time and force. These movements are carried out by three pairs of muscles corresponding to the three spatial dimensions. A particular position or movement of the eyeball is the resultant of a specifically structured, centrally located excitation pattern. This central excitatory state is responsible for the innervation of the muscles concerned, which bring about the dynamic equilibrium of forces responsible for the concrete position or movement.

2. The fact that deviations of the eyeball from the primary position change the effect of the eye muscles complicates the "organisation" of the movement. For accurate movements, the momentary effect of the muscles coming into play must, for physical reasons, be taken into account. With the help of proprioceptive impulses originating in the orbital cavity a corresponding modification of the central excitation pattern is brought about.

3. The so-called visual grasp reflex (optischer Greifreflex, HESS) is used to show how the place these afferent impulses occupy in the motor functional organisation must be understood. These considerations lead to the concept of the "directed reflex" (gelenkter Reflex) of HESS, which was postulated by this author a number of years ago.

4. On the basis of several experimental series, it was possible to demonstrate that the vestibular nystagmus of the eye is also governed by the principle of the "directed reflex". It was shown, namely, that the plane of the nystagmus beats (Schlagebene des Nystagmus) – as an expression of a particular arrangement of forces – not only depends upon the semi-circular canal system, but also is influenced, corresponding to the momentary position in space, by the gravity receptors, the otolith organs.

5. This "superimposition" of additional "directing" influences on the simple vestibular reflexes is discussed in connection with HESS' experiments on the excitation of the brain system and the extrapyramidal motor effects revealed by them.

## Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

### Einfluß kapillaraktiver Stoffe auf die Bargersche Methode zur Bestimmung der Dampfdruckerniedrigung

Wenn die Dampfdruckerniedrigung sehr kleiner Lösungsmengen zu bestimmen ist, wird häufig die Bargsche Mikromethode angewendet<sup>1</sup>. Diese Methode besteht

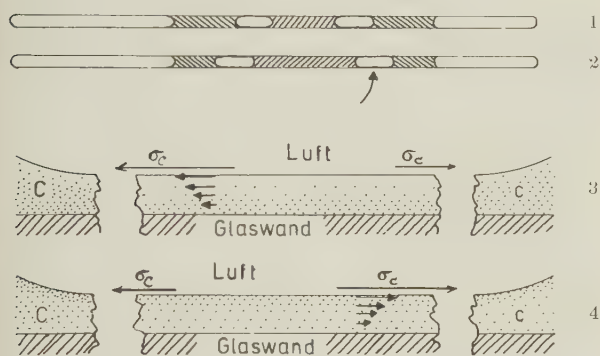
<sup>1</sup> G. BARGER, Ber. dtsch. chem. Ges. 37, 1754 (1904); Abderhaldens Hdb. biol. Arbeitsmeth. III. A. 1, 729 (1928); J. Chem. Soc. 85, 286 (1904); – K. RAST, Abderhaldens Hdb. biol. Arbeitsmeth. III. A. 1, 743 (1928).

im wesentlichen darin, daß man in eine dünn ausgezogene Glaskapillare die Tropfen von Lösungen verschiedener Konzentration nacheinander aufsaugt (Abb. 1) und dann während längerer Zeit (10–100 Stunden) im Mikroskop das Wachsen der Tropfen niedrigeren Dampfdruckes beobachtet (Abb. 2). Aus der Geschwindigkeit des Wachsens der Tropfen schließt man auf den Dampfdruckunterschied zwischen der zu untersuchenden und der bekannten Vergleichslösung.

Es ist schon länger bekannt, daß es sich dabei nicht ausschließlich um eine isotherme Destillation han-



delt<sup>1</sup>. Vielmehr ist für den Effekt zur Hauptsache eine «Diffusion des Lösungsmittels» der benetzten Wand entlang verantwortlich. Darauf kann aus dem Umstand geschlossen werden, daß wenn die Kapillarwand zwischen den beiden Tropfen nicht benetzt ist, die Wachstumsgeschwindigkeit der Tropfen sechsmal kleiner ist und die Resultate stark streuen. Es wird auch beobachtet, daß das Wandern nicht etwa aufhört, wenn die Lösungsmittelmenge hinüberdestilliert ist, die zum Ausgleich der Konzentrationen nötig wäre, sondern erst beträchtlich später zum Stillstand kommt. Das ist nur möglich, wenn mit dem Lösungsmittel etwas gelöster Stoff mitwandert, was bei einer Destillation nicht in Frage kommt. Eine Diffusion vermag auch nicht alles ohne weiteres zu erklären, da der gelöste Stoff sich gegen höhere Konzentrationen zu bewegen scheint. Über das Wesen dieser «Diffusion» ist nichts Näheres bekannt.



Man kann versuchen, den Vorgang vom Standpunkt der Oberflächenspannung zu betrachten. Bekanntlich beeinflussen alle gelösten Stoffe die Oberflächenspannung der Lösung, indem sie dieselbe entweder erhöhen (kapillarinaktive Substanzen) oder aber erniedrigen (kapillaraktive Stoffe). Die Testversuche an wässrigen Lösungen sind (wie durch Zufall) alle mit kapillarinaktiven Stoffen, wie Zucker oder Harnstoff, durchgeführt worden<sup>2</sup>. Betrachten wir nun den benetzenden Film zwischen den zu vergleichenden Tropfen (zum Beispiel die in Abb. 2 mit einem Pfeil bezeichnete Stelle, die in Abb. 3 stark vergrößert schematisch dargestellt ist). Die Oberflächenspannung ( $\sigma$ ) der Lösung mit der höheren Konzentration (C) ist größer als die der verdünnten (c). Es resultiert eine Zugkraft  $c \rightarrow C$  auf die Oberfläche des Films, welche, wegen der endlichen Viskosität des Films (die mit der makroskopischen Viskosität nicht identisch ist), zur Folge hat, daß sich eine durch die eingezeichneten Pfeile veranschaulichte Strömung ausbildet. Die kapillarinaktiven Substanzen (in Abb. 3 durch Punkte angedeutet) sind an die Oberfläche negativ adsorbiert (das heißt verdünnt). Man erkennt sofort, daß infolge der Strömung des Films eine Verdünnung des konzentrierteren Tropfens (C) erfolgt, da ja bevorzugt Lösungsmittel transportiert wird. Es ist auch klar, daß die Strömung länger anhalten wird, als dies auf Grund einer Destillationstheorie zu erwarten wäre, da in den unteren Schichten gelöster Stoff mitwandert. Wie schon erwähnt, wird dieses Verhalten auch experimentell festgestellt.

Wenn diese Deutung des Vorganges richtig ist, so ist zu erwarten, daß bei Anwesenheit kapillaraktiver Stoffe

der Vorgang umgekehrt verläuft. Dieser Fall ist in Abb. 4 veranschaulicht. Die Oberflächenspannung ist nun in der verdünnten Lösung (c) größer und die Substanz ist in der Oberfläche angereichert. Wir erwarten daher, daß der verdünnte Tropfen auf Kosten des konzentrierteren wachsen wird. Aus dem Strömungsbild ist auch ersichtlich, daß auch in diesem Falle ein Ausgleich der Konzentrationen erfolgt, da mit der Oberflächenschicht jetzt bevorzugt gelöster Stoff transportiert wird. Die Strömung muß daher nach einer Weile zum Stillstand kommen.

Die Adsorption bringt den gelösten Stoff in die Oberfläche, die als Förderband zwischen den beiden Tropfen wirkt, die Desorption holt ihn wieder ins Innere der Lösung. Die Verzögerung dieser Vorgänge (eine Stauung) hat eine Abnahme der treibenden Kraft zur Folge. Daher wird die Strömungsgeschwindigkeit sehr stark von der Adsorptions- und Desorptionsgeschwindigkeit des gelösten Stoffes abhängen.

Das Experiment bestätigt diese Voraussage. Vergleicht man nämlich in der Bangerschen Kapillare destilliertes Wasser mit einer verdünnten Na-oleat-Lösung, so stellt man fest, daß die Tropfen des Wassers auf Kosten derjenigen der Seifenlösung wachsen. Es wird also vorgetäuscht, daß das reine Wasser einen niedrigeren Dampfdruck habe als die Seifenlösung.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß die Bangersche Methode für wässrige Lösungen, die kapillaraktive Stoffe enthalten, keine zuverlässigen Resultate liefert, da die Richtung des Effektes außer vom Dampfdruck der Lösungen auch von deren Oberflächenspannung abhängt. Die Lösungen pflanzlichen und tierischen Ursprungs sind eben solche. Die an diesen gewonnenen Resultate sind deshalb mit Vorsicht zu behandeln. Die statischen Methoden (osmotischer Druck, Gefrierpunktniedrigung usw.) sind den dynamischen vorzuziehen. In neuerer Zeit ist es gelungen, eine Methode zu entwickeln, die es gestattet, in kleinsten Lösungsmengen (1–0,1  $\gamma$ ) die Gefrierpunktniedrigung mit einer Genauigkeit von 0,002° zu bestimmen<sup>1</sup>. B. HARGITAY

Physikalisch-chemische Anstalt der Universität Basel, den 9. März 1951.

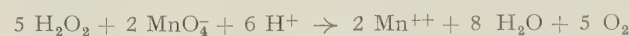
#### Summary

BARGER's micromethod for determination of mole concentrations, when applied to aqueous solutions containing surface active agents, is critically discussed. A theory is proposed for the mechanism of BARGER's method which predicts that the effect in the capillary should reverse, if the solute is a surface active agent. This prediction is experimentally verified.

<sup>1</sup> B. HARGITAY, W. KUHN und H. WIRZ, erscheint Exper. VII/7, 1951).

### Zur Frage der Herkunft des Sauerstoffs bei der Oxydation von Wasserstoffperoxyd durch Permanganat

Der Permanganatmethode, wie sie in der Maßanalyse oft zur Gehaltsbestimmung von Wasserstoffperoxydlösungen Verwendung findet, liegt bekanntlich folgende Bruttoreaktion zugrunde:



Im allgemeinen wird heute angenommen, daß der bei dieser Reaktion entwickelte Sauerstoff quantitativ aus dem Wasserstoffperoxyd stammt. Obwohl verschiedene Gründe für diese Annahme geltend gemacht wurden, fehlte bis jetzt ihr direkter Beweis. Wir versuchten

<sup>1</sup> K. YAMAKAMI, Biochem. J. 14, 103 (1920).

<sup>2</sup> G. BARGER, Ber. dtsh. chem. Ges. 37, 1745 (1904); Abderhaldens Hdb. biol. Arbeitsmeth. III. A. 1, 729 (1928); J. Chem. Soc. 85, 286 (1904). – K. RAST, Abderhaldens Hdb. biol. Arbeitsmeth. III. A. 1, 743 (1928). – K. YAMAKAMI, Biochem. J. 14, 103 (1920).



aus diesem Grunde, die Herkunft des Sauerstoffs durch Etikettierung des Permanganats mit schwerem Sauerstoff  $O^{18}$  eindeutig klarzustellen, wobei wir folgendermaßen vorgehen:

Angesäuerte Lösungen von gewöhnlichem Wasserstoffperoxyd (0,21 Atom %  $O^{18}$ ) in Wasser mit angereichertem  $H_2O^{18}$  (0,45 Atom %  $O^{18}$ )<sup>1</sup> wurden mit schwerem Kaliumpermanganat (0,40 Atom %  $O^{18}$ )<sup>2</sup>, das ebenfalls in angereichertem  $H_2O^{18}$  gelöst war, gemäß obiger Reaktion vollständig zersetzt. Der entweichende Sauerstoff wurde gesammelt und sein Isotopenverhältnis  $O^{18}/O^{16}$  massenspektrometrisch<sup>3</sup> mit demjenigen von Sauerstoff verglichen, der unter exakt denselben Bedingungen aus dem gleichen Wasserstoffperoxyd, aber unter Verwendung von gewöhnlichem Permanganat und gewöhnlichem Wasser (0,21 Atom %  $O^{18}$ ) entwickelt wurde. Derartige Parallelversuche wurden bei verschiedenen Bedingungen (Azidität, Temperatur) durchgeführt, und die dabei erhaltenen Isotopenverhältnisse  $O^{18}/O^{16}$  sind in der Tabelle miteinander verglichen.

Vergleich der Isotopenverhältnisse  $O^{18}/O^{16}$  in Sauerstoff, der durch Oxydation von  $H_2O_2$  einerseits mit angereichertem  $KMnO_4^{18}$  andererseits mit gewöhnlichem  $KMnO_4$  entwickelt wurde.

Reaktion Nr.	Konzentrationen Mol/l		Reaktionstemperatur °C	Isotopenverhältnis $O^{18}/O^{16}$ in $O_2$ aus $H_2O_2$ durch Reakt. mit	
	$H_2O_2$	$H_2SO_4$		$KMnO_4^{18}$ in $H_2O^{18}$	$KMnO_4$ in $H_2O$
1	0,4	1,8	0°	0,002 085	0,002 086
2	0,4	1,8	45°	0,002 085	0,002 085
3	0,13	0,6	20°	0,002 084	0,002 084
4	0,2	4,5	10°	0,002 089	0,002 084
					$\pm 0,000\ 001$

$O^{18}/O^{16}$ -Verhältnis in  $O_2$  aus  $KMnO_4^{18}$  (therm. Zersetzung): 0,003970

Die ausgezeichnete Übereinstimmung der in der Tabelle wiedergegebenen Häufigkeitsverhältnisse  $O^{18}/O^{16}$  zeigt, daß der durch Oxydation von Wasserstoffperoxyd mit Permanganat entstehende Sauerstoff in seiner Isotopenzusammensetzung vollständig unabhängig von derjenigen im Permanganat und im Wasser ist, und daß Veränderungen von Konzentrationen<sup>4</sup> und Reaktionstemperatur das  $O^{18}/O^{16}$ -Verhältnis ebenfalls nicht beeinflussen. Es folgt daraus, daß der Sauerstoff tatsächlich ausschließlich vom Wasserstoffperoxyd geliefert wird, und daß während seiner Entstehung kein Austausch mit dem im Wasser gebundenen Sauerstoff stattfindet.

Abschließend sei erwähnt, daß auch bei der katalytischen Spaltung von gewöhnlichem Wasserstoffperoxyd in saurer und alkalischer Lösung die Isotopenzusammensetzung des entwickelten Sauerstoffs von derjenigen des zugemischten Wassers vollkommen unabhängig ist. Da aber bei der katalytischen Zersetzung nur die Hälfte des im Wasserstoffperoxyd gebundenen Sauerstoffs als solcher befreit wird, treten Isotopenfraktionierungen

auf, die in engem Zusammenhang mit dem Zerfallsmechanismus stehen. Vorläufige Messungen ergaben einen Anstieg des  $O^{18}$ -Gehaltes im entwickelten Sauerstoff im Verlaufe der langsamen Zersetzung des Wasserstoffperoxyds. Ferner ergaben sich Unterschiede im  $O^{18}/O^{16}$ -Verhältnis zwischen dem Wasserstoffperoxyd und dem unmittelbar daraus frei werdenden Sauerstoff. Beide Effekte zeigten, besonders in alkalischer Lösung, eine ausgeprägte  $p_H$ -Abhängigkeit. Die quantitative Beschreibung dieser Isotopenfraktionierungen und ihrer Beziehungen zum Zersetzungsmechanismus des Wasserstoffperoxyds soll in einer spätern Arbeit folgen.

P. BAERTSCHI

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel, den 5. Februar 1951.

### Summary

The origin of the oxygen in the reaction of hydrogen peroxide and permanganate has been studied, using  $KMnO_4$  and water, enriched with  $O^{18}$ . It has been demonstrated that the oxygen evolved comes from the hydrogen peroxide exclusively. No exchange with the oxygen in the water has been observed.

The catalytic decomposition of hydrogen peroxide leads to an isotopic fractionation of the oxygen.

### La texture de la cellulose animale

Les travaux de KINSINGER et collaborateurs<sup>1</sup> sur les fibres de ramie et de coton, de PRESTON<sup>2</sup> et collaborateurs sur la paroi cellulaire de *Valonia ventricosa*, de FREY-WYSSLING, MÜHLETHALER et WYCKOFF<sup>3</sup> sur les membranes de coléoptiles d'avena et de MÜHLETHALER<sup>4</sup> sur la cellulose bactérienne (*A. xylinum*) exécutés au moyen du microscope électronique, ont montré que la cellulose native est formée de fibrilles individuelles non ramifiées, d'un diamètre de 150–300 Å et d'une longueur indéterminée.

D'après PRESTON<sup>2</sup> ces observations ne confirment pas la théorie de la structure cellulosique en micelles en franges<sup>5</sup> mais suggèrent plutôt celle de fibrilles continues proposées par K. H. MEYER et VAN DER WYK<sup>6</sup>.

Il nous a paru intéressant d'examiner la structure de la tunicine, la seule cellulose animale connue<sup>7</sup>. Nous avons préparé deux échantillons différents de tunicine de *Phallusia mammillata*, le premier étant prélevé d'un animal vivant, le second d'une bête conservée à l'alcool formolé. Les échantillons ont été lavés à l'eau distillée à plusieurs reprises, puis traités pendant 20–40 min dans un «blendor» à 1400 t/min. Une goutte de la suspension ainsi obtenue est séchée sur le support de collodion, et la préparation est ombrée avec un alliage Au-Pt-Pd<sup>8</sup> (fig. 1 et 2).

<sup>1</sup> W. G. KINSINGER et C. W. HOCK, Ind. Eng. Chem. **40**, 1711 (1948).

<sup>2</sup> R. D. PRESTON, E. NICOLAI, R. REED et A. MILLARD, Nature **162**, 665 (1948).

<sup>3</sup> A. FREY-WYSSLING, K. MÜHLETHALER et R. W. G. WYCKOFF, Exper. **4**, 475 (1948). – K. MÜHLETHALER, Biochim. biophys. acta **5**, 1 (1950).

<sup>4</sup> K. MÜHLETHALER, Biochim. biophys. acta **3**, 527 (1949).

<sup>5</sup> O. KRATKY, Koll. Z. **70**, 14 (1935). – A. FREY-WYSSLING, Protoplasma **25**, 261 (1936): *Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate* (Berlin 1938).

<sup>6</sup> K. H. MEYER et A. J. A. VAN DER WYK, Z. Elektrotechn. **47**, 353 (1941).

<sup>7</sup> Microscope électronique de Trüb, Täuber & Cie., Zurich.

<sup>8</sup> Usine Genevoise de Dégrossissage d'Or, alliage 1003.

<sup>1</sup> Das Wasser mit 0,45 Atom %  $O^{18}$  wurde durch Destillation von Leitungswasser in einer am hiesigen Institut entwickelten Abtriebskolonne erhalten.

<sup>2</sup> Die Anreicherung von  $O^{18}$  in  $KMnO_4$  auf 0,40 Atom % erfolgte durch 70stündigen Austausch von gewöhnlichem  $KMnO_4$  in Wasser mit 0,45 Atom %  $H_2O^{18}$  bei etwa 60°.

<sup>3</sup> Die Isotopenanalysen wurden in einem Consolidated-Nier-Massenspektrometer, Modell 21–201, ausgeführt durch Vergleich der Ionenströme der  $O^{16}O^{18}$ - und  $O_2^{16}$ -Molekeln.

<sup>4</sup> In stark sauren Lösungen tritt, wie Versuche ergaben, als Nebenreaktion eine langsame, spontane Zersetzung der freien Permanganensäure ein, wobei ebenfalls Sauerstoff gebildet wird. Hierdurch erklärt sich der merklich höhere  $O^{18}$ -Gehalt bei Verwendung von schwerem  $KMnO_4$  in Reaktion Nr. 4 der Tabelle.



On observe des fibrilles d'un diamètre constant de l'ordre de 200 Å. Celles-ci sont souvent juxtaposées l'une par rapport à l'autre et forment ainsi des rubans qui peuvent être tordus. Les fibrilles ont une longueur indéterminée et ne sont pas anastomosées, elles ne peuvent pas être cylindriques mais sont aplaties (haut de la figure 2). Lorsque la fibre est à plat et que l'axe du filament se trouve dans la direction de l'ombrage, une striation d'une période d'environ 200 Å semble apparaître. Une telle striation a déjà été observée sur les fibrilles de coton<sup>1</sup>. Les images qu'on obtient sont dans une certaine mesure semblables à celles fournies par la cellulose de *A. xylinum*.

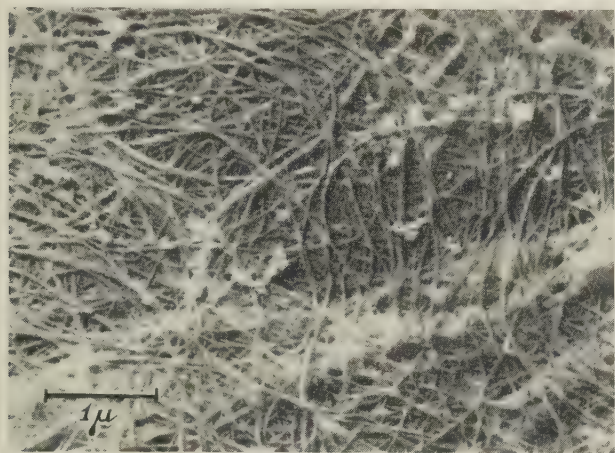


Fig. 1.

La tunicine rappelle d'ailleurs la cellulose bactérienne, soit par son aspect microscopique, soit par sa teneur en eau. Enfin, d'après l'analyse aux rayons X, les fibrilles de ces deux sortes de cellulose s'orientent comme des rubans lorsqu'on les étire en film, les plans 101 se trouvant dans le plan du film<sup>2</sup>.



Fig. 2.

Note ajoutée à l'épreuve: Dans une publication qui a paru après l'envoi de ce travail, FREY-WYSSLING et FREY<sup>3</sup>) obtiennent des résultats identiques aux nôtres,

<sup>1</sup> W. G. KINSINGER et C. W. HOCK, Ind. Eng. Chem. 40, 1711 (1948).

<sup>2</sup> H. MARK et G. v. SUSICH, Z. physik. Chem. [B] 4, 431 (1929).

<sup>3</sup> A. FREY-WYSSLING et R. FREY, Protoplasma 39, 656 (1950).

mais ils ne décrivent pas la forme aplatie des fibrilles alors qu'elle apparaît clairement sur nos micrographies.

KURT H. MEYER, L. HUBER et E. KELLENBERGER

Laboratoires de Chimie organique et inorganique et Institut de Physique, Laboratoire de microscopie électronique, Université de Genève, le 20 mars 1951.

### Summary

Electron micrographs of animal cellulose (tunicin of *Phallusia mammillata*) show continuous fibrils of 200 Å width. The fibrils are flattened and seem to exhibit a longitudinal periodicity of 200 Å. Anastomoses have not been observed.

### Idrolisi della succinilcolina da colinesterasi: Utilizzazione simultanea della cromatografia su carta e della tecnica di Warburg

È stato dimostrato che la succinilcolina ha una intensa azione curarica di breve durata, che è potenziata, non antagonizzata dall'esperina<sup>1</sup>. Questo suggerisce che è distrutta in vivo dalla colinesterasi, così come avviene *in vitro*<sup>2</sup>. È quindi interessante conoscere se l'idrolisi dei due legami esterici avviene contemporaneamente o se si forma prima la succinilmonocolina.

Uno svantaggio del metodo di WARBURG, che viene abitualmente adoperato per lo studio dell'attività colinesterasica, è che i prodotti della reazione possono essere identificati solo indirettamente. Ci è sembrato possibile che l'uso della cromatografia su carta in unione alla tecnica di WARBURG possa identificare direttamente i prodotti dell'idrolisi della succinilcolina.

L'enzima era la colinesterasi del siero di cavallo parzialmente purificata col metodo di STRELITZ<sup>3</sup> (2° grado). Gli esperimenti al WARBURG erano eseguiti a 37°, e a  $p_H$  7 con l'uso di 10% CO<sub>2</sub> + 90% N<sub>2</sub> in equilibrio con 0,2% di NaHCO<sub>3</sub>. I cromatogrammi erano ottenuti su carta da filtro Whatman N° 4 (cromatografia ascendente). Le macchie venivano visualizzate con il metodo allo iodio<sup>4</sup> e con un nuovo metodo che fa uso di una micro-reazione proposta da FEIGL<sup>5</sup> per gli esteri carbossilici. Esso consiste nello spruzzare la carta con idrossilammina alcalina (volumi eguali di cloridrato di idrossilammina 14% e NaOH 14%) e successivamente con cloruro ferrico acido (FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 10% in HCl 3,5 N). Gli esteri acquistano un color rosso porpora non stabile su fondo giallo. Il solvente più soddisfacente fu trovato essere isopropanolo-acqua-acido formico (40:10:1); si è potuto così avere una buona separazione tra la succinildicolina ( $R_F$  = 0,3), e la succinilmonocolina ( $R_F$  = 0,63), ma non tra la succinilmonocolina e la colina ( $R_F$  = 0,60); queste due ultime sostanze possono tuttavia essere differenziate perché solo la succinilmonocolina reagisce col reattivo carbossilico. In un'esperienza, la succinildicolina (0,02 M), fu incubata per 2 ore con l'enzima con la produzione di 550 μl di CO<sub>2</sub>. Per fermare la reazione fu aggiunta esperina (concentrazione finale: 1/25000). La soluzione (6 μl) fu aggiunta sulla carta con una micropipetta; come controlli furono utilizzati: una eguale soluzione alla quale

<sup>1</sup> D. BOVET, F. BOVET-NITTI, S. GUARINO, V. G. LONGO e M. MAROTTA, Rend. Ist. Sup. Sanità (Roma) 12, 106 (1949). – F. BOVET-NITTI, Rend. Ist. Sup. Sanità (Roma) 12, 138 (1949).

<sup>2</sup> D. GLICK, J. Biol. Chem. 137, 357 (1941).

<sup>3</sup> F. STRELITZ, Biochem. J. 33, 86 (1944).

<sup>4</sup> G. BRANTE, Nature 163, 651 (1949). – G. B. MARINI-BETTOLO-MARCONI e S. GUARINO, Exper. 6, 309 (1950).

<sup>5</sup> F. FEIGL, Spot Tests (3rd Edit. Elsevier, New York, 1947).



però l'eserina era stata aggiunta al tempo zero, ed un'altra senza l'enzima.

La figura mostra i risultati dello sviluppo del cromatogramma. Si vede che una macchia corrispondente all'estere monocolinico appare solo nella soluzione nella quale la succinildicolina è stata incubata con l'enzima per 2 ore (striscia 4); corrispondentemente la macchia dell'estere dicolinico è più piccola. Nell'assenza dell'enzima (striscia 2), non vi è l'estere monocolinico, e la presenza di proteina e di eserina (striscia 3) non interferisce con l'identificazione. La presenza nella macchia più veloce dell'estere monocolinico è stata confermata con la positività della reazione esterica rosso-porpora.

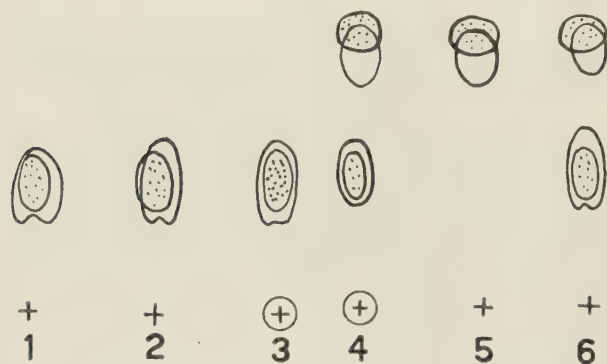


Fig. 1. – Identificazione della succinildicolina e della succinilmonocolina con cromatografia ascendente; apparizione della succinilmonocolina nel corso dell'idrolisi da colinesterasi del siero della succinildicolina; 1. Succinildicolina (60 µg); 2. Succinildicolina (60 µg) dopo 120' di incubazione a 37° senza enzima; 3. Succinildicolina con enzima in presenza di eserina; 4. Succinildicolina con enzima; l'eserina viene aggiunta alla fine dell'incubazione (120' a 37°); 5. Succinilmonocolina (30 µg); 6. Succinilmonocolina e succinildicolina (30 µg). Cerchi semplici, colorazione con  $I_2$ ; cerchi punteggiati, colorazione con  $NH_2OH$  e  $FeCl_3$ .

Altre esperienze in cui si variava la concentrazione dell'enzima e il tempo di incubazione mostrarono una correlazione qualitativa tra la superficie delle macchie e le quantità sviluppate di  $CO_2$ .

Poichè anche l'estere monocolinico è idrolizzato dalla colinesterasi, quantunque più lentamente (30% dell'estere dicolinico), è possibile concludere che alla fine tutti e due i legami della succinildicolina sono idrolizzati.

Da queste esperienze risulta quindi che monosuccinilcolina si forma dall'idrolisi colinesterasica della succinildicolina, e che l'applicazione dei metodi cromatografici in unione agli abituali metodi può essere generalmente utile.

Ringrazio il Professore D. BOVER per avermi suggerito il problema e per l'ospitalità che ha voluto offrirmi nel Laboratorio di Chimica Terapeutica.

V. P. WHITTAKER

Laboratorio di Chimica Terapeutica dell'Istituto Superiore di Sanità, Roma, il 15 ottobre, 1950.

#### Summary

Succinyl monocholine ester has been identified by paper chromatography as an intermediate in the breakdown of succinylcholine in the presence of horse serum cholinesterase.

## Recherches sur la biosynthèse des caroténoïdes chez un microorganisme. Production de caroténoïdes marqués par *Phycomyces blakesleeanus*

*Phycomyces blakesleeanus* est l'organisme de choix pour l'étude de la biosynthèse des caroténoïdes, et particulièrement de celle du carotène  $\beta$ , comme nous l'avons montré dès 1935<sup>1</sup>. GARTON, GOODWIN et LIJINSKY (1951)<sup>2</sup>, dans un travail récent, font une étude détaillée de la biogenèse des caroténoïdes par ce microorganisme.

En modifiant le milieu synthétique (avec vitamine  $B_1$ ) de telle manière que les sources de carbone (glucose) et d'azote (asparagine) soient remplacées par du lactate de  $NH_4$ , nous obtenons des thalles blancs, privés de caroténoïdes; en ajoutant à ce milieu nouveau de l'acétate de sodium, le développement s'améliore et la biosynthèse des caroténoïdes se produit. Ce fait nous a incités à considérer l'acétate comme un précurseur des caroténoïdes de *Phycomyces*<sup>3</sup>.

La même observation a été faite avec une souche de *Rhodotorula rubra* et surtout avec *Mucor hiemalis*, qui est un excellent producteur de caroténoïdes (voir tableau suivant):

Milieu minéral avec	Caroténoïdes totaux*
Glucose + asparagine	1,78
Lactate $NH_4$ + glucose	1,50
Lactate $NH_4$ + acétate	0,416
Lactate $NH_4$ seul	0

\* Les chiffres expriment les coefficients d'extinction fournis par des solutions de caroténoïdes obtenus dans des conditions déterminées (voir 3).

L'action de l'acétate n'est pas limitée à un organisme. Nous ne savons pas encore jusqu'à quel point elle pourra être généralisée. Surtout, l'action de l'acétate n'exclut pas la possibilité que d'autres précurseurs puissent être mis en évidence chez d'autres organismes. Le fait essentiel est que l'acétate fonctionne comme précurseur primitif d'une biosynthèse complexe au sujet de laquelle nous ne savons que fort peu de chose.

Cependant, l'hypothèse très vraisemblable que nous avons émise ne sera vérifiée que s'il est démontré que le carbone de l'acétate participe directement à la constitution de la molécule de carotène. Ce but peut être atteint en utilisant un acétate marqué. Des expériences ont été effectuées avec *Phycomyces blakesleeanus* (souche  $Ba^+$ ). L'acétate est marqué grâce au  $^{14}C$  du groupe méthyle ou du groupe carboxyle.

<sup>1</sup> W. H. SCHOPFER, C. r. Soc. Biol. Paris 118, 3 (1935).

<sup>2</sup> G. A. GARTON, T. W. GOODWIN et W. LIJINSKY, Biochem. J. 48, 154 (1951).

<sup>3</sup> W. H. SCHOPFER et E. C. GROB, Exper. 6, 419 (1950).

La composition exacte des milieux est la suivante: a) milieu carotino-gène, glucose 30 g, asparagine 1 g,  $KH_2PO_4$  1,5 g,  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  0,5 g, aneurine 20  $\gamma$  pour 1 l d'eau distillée; b) milieu non carotino-gène, lactate de  $NH_4$  2 g, lactate de Mg 2 g,  $KH_2PO_4$  1,5 g,  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  0,5 g,  $MnSO_4$  0,1 g, aneurine 20  $\gamma$  pour 1 l d'eau distillée. L'adjonction de 10 g par litre d'acétate de sodium rend ce milieu carotino-gène. P. KARRER et U. SOLMSEN (Helv. chim. acta, 19, 3 [1936]) ont d'ailleurs montré que des *Rhodovibrio*, cultivés sur asparagine et acide malique, forment leurs caroténoïdes à partir de ces sources de carbone; ils admettent la voie suivante: acide succinique  $\rightarrow$  acide fumarique  $\rightarrow$  acidemalique  $\rightarrow$  acide oxalacétique  $\rightarrow$  aldéhyde acétique; à partir de ce dernier, par l'intermédiaire possible de l'aldéhyde  $\beta$ -méthyl-crotonique, l'organisme pourrait synthétiser ses caroténoïdes.



Dans une première série d'expériences, le milieu contient, à part l'acétate normal, 0,1 mC correspondant à 8,2 mg d'acétate marqué ( $^{14}\text{CH}_3\text{COONa}$ ) pour 3750 cm<sup>3</sup> de milieu au lactate répartis en 150 culture de 25 cm<sup>3</sup> chacune. Les thalles sont récoltés au moment de la plus forte production de caroténoïdes. Nous obtenons 5,2843 g de matière sèche; les thalles sont placés dans du méthanol, séchés dans le vide et pulvérisés. La poudre de thalle est épuisée par l'éther de pétrole. Les caroténoïdes sont précipités par l'iode selon la méthode de KARRER et WALKER<sup>1</sup>. Le précipité est lavé avec de l'acétone, et les caroténoïdes sont régénérés par le thiosulfate de sodium selon P. KARRER, K. SCHÖPP et R. MORF<sup>2</sup>. Un volume d'éther de pétrole est ajouté à la solution acétonique; l'acétone est éliminé par agitation avec de l'eau. La solution dans l'éther de pétrole est agitée plusieurs fois avec du méthanol à 90%. Une chromatographie sur  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nous permet de séparer le déhydro- $\beta$ -carotène (iso-carotène) formé par la décomposition du produit d'addition avec l'iode<sup>3</sup>. La solution du caroténoïde est concentrée dans le vide; nous obtenons 3,4 mg du produit qui est immédiatement soumis à l'examen.

L'activité des noyaux du  $^{14}\text{C}$  contribuant à la genèse du caroténoïde est mesurée à l'aide d'un compteur de Geiger-Müller de grand diamètre et à fenêtre de mica très mince. Le caroténoïde est placé sur une petite plaque de laiton sans bord (diamètre 2,2 cm) absolument plane et polie, en couche très mince et homogène (0,5 mg par cm<sup>2</sup>) de manière à réduire le plus possible la self-absorption des rayons  $\beta$  très mous du  $^{14}\text{C}$ .

La détermination de l'activité absolue se fait en tenant compte, entre autre, du facteur de «backscattering» que nous avons déterminé pour le système laiton- $^{14}\text{C}$ ; elle nous a permis de calculer la proportion dans laquelle les atomes de carbone de l'acétate participent à la biosynthèse du caroténoïde. Nous trouvons que 25%, assez exactement, des atomes de carbone du caroténoïde proviennent du groupe méthyle; la répétition de l'expérience, effectuée avec une dose différente d'acétate de sodium, fournit des résultats concordants; l'expérience effectuée avec  $\text{CH}_3^{14}\text{COONa}$  atteste que 50% des atomes de carbone du caroténoïde proviennent du groupe carboxyle; le reste des atomes marqués est réparti entre les lipides et le milieu restant.

Ainsi se trouve confirmée la voie nouvelle de biosynthèse du  $\beta$ -carotène par *Phycomyces* que nous avons indiquée sur la base de nos premières expériences. La méthode à l'acétate est susceptible d'être généralisée et nous permettra d'étudier plus exactement le métabolisme et la biosynthèse des caroténoïdes chez les microorganismes et les plantes supérieures. Les recherches continuent à ce sujet.

La méthode de préparation utilisée nous fournit du déhydro- $\beta$ -carotène dont la constitution a été établie par P. KARRER et G. SCHWAB<sup>4</sup>. En remplaçant la précipitation par l'iode par une autre méthode nous pourrions obtenir, marqué, le  $\beta$ -carotène si abondant chez *Phycomyces*.

Nous remercions le Dr. M. BEIN pour son aide dans l'exécution des expériences.

Ces recherches sont effectuées avec l'appui de la «Fritz-Hoffmann-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz», à laquelle nous exprimons notre gratitude.

E. C. GROB, G. G. PORETTI, A. VON MURALT et W. H. SCHOPFER.

Institut de botanique de l'Université et Institut Th. Kocher, Berne, le 19 avril 1951.

### Zusammenfassung

Unter Verwendung eines speziellen Milieus wurde gezeigt, daß bei *Phycomyces* Na-Azetat die Vorstufe des  $\beta$ -Karotins darstellt. Durch Verwendung von markiertem Azetat ( $^{14}\text{CH}_3\cdot\text{COONa}$  und  $\text{CH}_3\cdot^{14}\text{COONa}$ ) wurde bewiesen, daß 25% des Gesamtkohlenstoffes des Karotins aus der  $\text{CH}_3$ -Gruppe und 50% aus der  $\text{COOH}$ -Gruppe stammen.

### L'isolation de microbes cérolytiques

D'après HAUPT<sup>1</sup> et SCHWARTZ<sup>2</sup>, et contrairement à GLASGOW<sup>3</sup>, l'hydrolyse des cires effectuée par divers homoptères est due à la présence de symbiotes libres ou localisés dans des mycétomes. En cultivant des symbiotes de Tinnéides (*Gall. mellon.*, *Gall. cerean.*, *Gall. soc. alba*, *Achroia gr.*) ainsi que *Dermestes lard.* l'un de nous a déjà pu isoler une cérase *in vitro*<sup>4</sup>. De semblables résultats furent publiés par FLORKIN *et al.*<sup>5</sup>. Dans la présente communication des méthodes d'isolement de microbes cérolytiques sont décrites. Deux milieux solides à base de cire de Chine ont été préparés. La cire de Chine provenant de *Coccus ceriferus* se compose de ceryl-cérolate ( $\text{C}_{27}\text{H}_{55}\text{O}\cdot\text{OC}_{27}\text{H}_{54}$ ) pur<sup>6</sup>. Deux émulseurs différents ont servi à faciliter la préparation de ces milieux dont voici la formule:

1° Cire de Chine . . . . .	15,0 g
Teinture de lacmus . . . . .	8,0
Xylidine . . . . .	30,0
2° $\alpha$ -diéthylamino- $\beta$ -oxy- propylamine <sup>7</sup> (émulseur)	1,0
3° $\text{CaCl}_2$ . . . . .	0,05
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ . . . . .	0,1
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$ . . . . .	0,06
$\text{MgSO}_4$ . . . . .	0,001 (lotion mère)
Ferro-ascorbate . . . . .	0,003
Peptone W . . . . .	2,0
Agar-agar . . . . .	6,0
Eau distillée <i>ad</i> . . . . .	120,0

Après tyndallisation, les milieux chauffés à 80°C passent trois fois dans l'appareil d'émulsification (d'après LIESEGANG<sup>8</sup>) et on remplit enfin les boîtes de Petri et les bouteilles de Roux qu'on laisse refroidir. Le milieu est solide, transparent et de couleur violette.

Le deuxième milieu est en principe identique au premier, sauf qu'il contient un autre émulseur.

En voici la composition II:

1° Cire de Chine . . . . .	10,0 g
Teinture de lacmus . . . . .	5,0
Chloroforme . . . . .	20,0

<sup>1</sup> H. HAUPT, Z. wiss. Insekten biol. 12, 327 (1916).

<sup>2</sup> W. SCHWARTZ, Biol. Zbl. 44, 265 (1924).

<sup>3</sup> D. GLASGOW, Biol. Bull. 26, 811 (1914).

<sup>4</sup> M. MUFTIC, Zbor Lijec. Hrv. reg. 32, 496 (1946).

<sup>5</sup> F. LOZET et M. FLORKIN, Exper. 5, 403 (1949). – H. SARLET et M. FLORKIN, Exper. 5, 404 (1949).

<sup>6</sup> M. GASCARD, C. r. hebdom. S. Acad. sc. 170, 78 (1920).

<sup>7</sup> D. R. P. 687224 (1929), I. G. Farbenindustrie.

<sup>8</sup> R. E. LIESEGANG, Kolloidchemische Technologie (1932), p. 619.

<sup>1</sup> P. KARRER et O. WALKER, Helv. chim. acta 17, 43 (1934).

<sup>2</sup> P. KARRER, K. SCHÖPP et R. MORF, Helv. chim. acta 15, 1158 (1932).

<sup>3</sup> R. KUHN et E. LEDERER, Naturwiss. 19, 306 (1931); Ber. dtsch. Chem. Ges. 65, 639 (1932). – P. KARRER, K. SCHÖPP et R. MORF, Helv. chim. acta 15, 1158 (1932).

<sup>4</sup> P. KARRER et G. SCHWAB, Helv. chim. acta 23, 578 (1940).



- 2° Tween 80<sup>1</sup> . . . . . 0,5 (émulgateur)  
 3° Comme dans le milieu I.  
 Emulsification à 72°C.

L'aspect est le même que celui du premier milieu mais la couleur est un peu plus claire. Tous les deux ont un  $p_H$  d'environ 7,2. Ces milieux furent ensemencés des contenus intestinaux de divers Tinnéides, Cicadidés et Cercopidés, tels que des mycétomes des Psyllides et Cercopidés obtenues par macération en Tyrode II. La moitié des boîtes furent cultivées à l'air, le reste dans une atmosphère d'azote humide.

On a aussi fait des cultures sur lacmus-agar, Endo- et Giemsa-agar. L'effet de l'hydrolyse a été constaté par le changement de la transparence, de la couleur et de la fluorescence sous l'action des rayons ultra-violets (2700 AU) par la méthode de RADLEY<sup>2</sup>.

Ainsi furent isolés jusqu'à présent cinq microbes ayant des pouvoirs cérolytiques.

Ce sont:

1° Un Streptobacille ellipsoïde cérolytique type A<sub>1</sub> qui fut isolé des cryptes intestinales de certaines espèces de Tinnéides et Cicadidés. Il est Gram-positif, aérobie; lim.  $p_H$  6,2/7,4. Il fermente xylose, lactose, dulcité.

2° Un Streptobacille ellipsoïde cérolytique type A<sub>2</sub> qui fut isolé du contenu intestinal de certains Tinnéides et de *Dermestes lard.* Il est Gram-positif, aérobie; lim.  $p_H$  6,2/7,4. Il fermente xylose, lactose, maltose.

3° Un Streptobacille ellipsoïde cérolytique type B isolé du contenu intestinal de certaines Cixies et Cercopidés. Il est Gram-positif, anaérobie, lim  $p_H$  6,4/7,2. Il fermente dextrose, arabinose, maltose.

4° Un Blastomyces intracellulaire cérolytique, variation anaérobie, isolé des mycétomes de *Plata marginella* et *Plata lustra*. Il est Gram-positif et présente une fine granulation à l'intérieur; lim.  $p_H$  6,4/7,2. Il fermente saccharose, lactose, rhamnose, dextrose et tributyrine. Il est très sensible à la lumière ultra-violette.

5° Un Blastomyces intracellulaire cérolytique, variation facultative. Il fut isolé des mycétomes de certains Cercopidés et surtout des *Pseudococc. citri*. Il est Gram-positif, lim.  $p_H$  6,4/7,2. Il fermente xylose, maltose, lactose, dextrose et tributyrine. M. KAMAL et M. MUFTIC

Laboratoires biologiques S. A., Djeddah, Arabie Saoudite, le 5 décembre 1949.

#### Zusammenfassung

Aus dem Darminhalt von Insekten wurden 5 verschiedene Mikrobenarten isoliert, die Wachs zu hydrolysieren vermögen. Die angewandten Kulturmethoden werden beschrieben.

<sup>1</sup> R. DUBOS, Proc. Soc. exper. Biol. and Med. 58, 361 (1945).

<sup>2</sup> J. A. RADLEY, Analyst. 57, 1932; Chem. Zbl. 1, 529 (1933).

#### Azione del diclorodifeniltricloroetano sullo sviluppo del bacillo di Koch

LÄUGER, MARTIN, MÜLLER<sup>1</sup> avevano osservato l'analogia tra la struttura del bis-(4-aminofenil)-sulfone (I), attivo *in vitro* ed *in vivo* sul bacillo di KOCH (RIST<sup>2</sup>; RIST e HAMON<sup>3</sup>) ed il bis-(4-clorofenil)-sulfone (II), insetticida per ingestione:

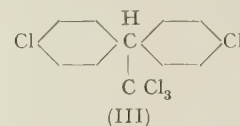
<sup>1</sup> P. LÄUGER, H. MARTIN e P. MÜLLER, Helv. chim. acta 27, 892 (1944); 29, 405 (1946).

<sup>2</sup> N. RIST, C. r. Soc. Biol. 130, 972 (1939).

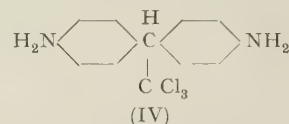
<sup>3</sup> N. RIST, F. BLOCH e V. HAMON, C. r. Soc. Biol. 130, 976 (1939).



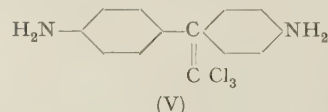
Da (I), per sostituzione del gruppo (–SO<sub>2</sub>) con CH–CCl<sub>3</sub> si ha il 2,2-bis-(p-clorofenil)-1,1,1-tricloroetano (DDT). Questa molecola (III), secondo lo schema del LÄUGER<sup>1</sup> si scinde in due gruppi: il p,p'-diclorodifenilico che esplica l'azione tossica ed il CCl<sub>3</sub>, dalla cui introduzione in (III) dipende l'incremento di attività rispetto a (II), che è responsabile della liposolubilità:



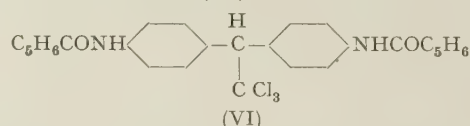
Dopo la scoperta del LÄUGER, sono stati sintetizzati diversi composti, dei quali si poteva prevedere che per la loro liposolubilità potessero agire su germi a forte protezione lipoidea come il bacillo di KOCH. Infatti, sostituendo in (I) l'–SO<sub>2</sub> con CH–CCl<sub>3</sub> si ha l'1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-aminofenil)-etano (IV):



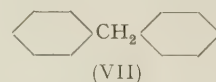
Secondo KIRKWOOD, PHILLIPS e Mc COOY<sup>2</sup> il (IV) inibisce completamente lo sviluppo del M. tbc. alla diluizione di 1/100.000 ed è ancora attivo ad 1/1.000.000. Somministrato alla dose di 0,5% della razione giornaliera influenza favorevolmente il decorso della infezione sperimentale della cavia. Anche l'1,1-dicloro-2,2-bis(p-aminofenil)-etilene (V) è attivo *in vitro*



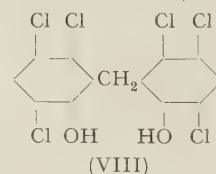
Poichè il (IV) perde facilmente cloro è stato stabilizzato come dibenzoilderivato (VI)



il quale, secondo BURGER, GRAEF e BAILEY<sup>3</sup>, è attivo *in vitro* sul M. tbc. alla concentrazione di 0,007–0,015 g/l.



Va segnalato che di recente (1949) il FLORESTANO ha sperimentata l'attività sul bacillo di KOCH del difenilmetano (VII) e di diversi derivati, dei quali il più attivo è il bis(2-idrossi-3,5,6-triclorofenil)metano (VIII):



<sup>1</sup> P. LÄUGER *et al.*, l. c.

<sup>2</sup> S. KIRKWOOD e P. H. PHILLIPS, J. Pharm. Exper. Ther. 87, 375 (1946); J. Amer. Chem. Ass. 69, 934 (1947). — S. KIRKWOOD, P. H. PHILLIPS e E. MCCOY, J. Amer. Chem. 28, 2405 (1946).

<sup>3</sup> A. BURGER, E. GRAEF e M. S. BAILEY, J. Amer. Chem. Soc. 68, 1725 (1946).



Ceppo	Controllo	mg DDT %													
		0,5	1	5	10	15	20	30	40	50	60	70	80	90	100
H 37 Rv. .	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—	—	—	—
H 49 . . .	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—	—	—	—
H 79 . . .	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—
H 123 . .	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—
BCG. . .	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—
Vallee . .	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—

Leggenda: +, ++, +++, ++++ sviluppo graduale fino alla parità coi controlli (++++); —: inibizione totale.

È sembrato opportuno indagare se anche il 2,2-bis (p-clorofenil)1,1,1-tricloroetano (III) agisse sul bacillo di Koch, dato l'alto potere penetrante e la sua liposolubilità, così come prospettato già da diversi autori (ERCOLI<sup>1</sup>, CATTANEO<sup>2</sup>, DEL VECCHIO<sup>3</sup>).

Le prove *in vitro* sono state eseguite su terreno solido e liquido. È stato preparato un agar-uovo-glicerinato, al quale prima dell'uovo è stato aggiunto il DDT (p. f. 110°C) in soluzione in cloroformio, che è stato fatto evaporare; l'evaporazione del solvente non ha influenza sul terreno. Le prove in terreno liquido sono state eseguite su SAUTON (seminato in superficie) e su YOUMANS (seminato in profondità con unasospensione contentente 0,1 mg di bacilli/cc.). Il DDT sciolto in alcool etilico a 9 5è stato aggiunto a ciascun matraccio di terreno. Le quantità di alcool usate (da 1 a 5 cm<sup>3</sup>) non influiscono sui risultati, come constatato nelle ricerche di controllo; ciò è in accordo con i dati di HAILER<sup>4</sup> e di SMITH<sup>5</sup>. Sono stati usati i ceppi: H 37 Rv («Trudeau Foundation»), H 49; H 79; H 123 (Istituto Principi di Piemonte, Napoli); BCG; Vallee (Istituto Pasteur).

I risultati della triplice serie di prove (ciascuna delle quali ripetuta due volte per ciascun ceppo) sono riassunti nella tabella.

Sono state eseguite anche delle prove *in vivo*: a) un lotto di cavia è stato inoculato con una sospensione bacillare (H 49) contenente 2/10 mg di bacilli (in peso secco)/cm<sup>3</sup>, mescolata a parti uguali ad una soluzione di DDT (100 mg/cm<sup>3</sup>) in olio d'oliva. Trascurabili sono state le differenze, sia per quanto riguarda il tempo di sopravvivenza che l'indice di tubercolizzazione, rispetto ai controlli (cavie inoculate con la sola sospensione bacillare; cavie inoculate con la sospensione emulsionata in olio d'oliva); b) un gruppo di cavia, inoculate con la medesima sospensione è stato quotidianamente trattato con 10 mg/di DDT in olio d'oliva. Rispetto alle cavie di controllo si è avuto solo un allungamento del tempo di sopravvivenza (di circa 25–30 g); scarse sono state le differenze tra le alterazioni visibili ad occhio nudo a carico degli organi interni presentate da ciascuno dei due gruppi di animali. Nelle cavie trattate col DDT erano presenti, inoltre, le tipiche lesioni da accumulo, particolarmente a carico del rene e del fegato.

Il DDT è risultato attivo sullo sviluppo *in vitro* del bacillo di Koch (var. H. e B.); la completa inibizione si ha alle concentrazioni di 50–60 mg %; a concentrazioni inferiori l'inibizione è soltanto parziale, con variazioni a seconda dei ceppi. Invece, gli altri composti (IV); (VI) agirebbero *in vitro* a concentrazioni notevolmente in-

feriori come dimostrato da KIRKWOOD<sup>1</sup> e collaboratori e da BURGER<sup>2</sup> e collaboratori. Analoghe differenze si verificherebbero tra il difenilmetano (VII), attivo alla dose di > 4 mg % e l'(VIII) attivo a 0,063 mg % (FLORESTANO<sup>3</sup>). Dalle prove *in vivo* risulta, però, che è molto scarsa l'efficacia del DDT sulla tubercolosi sperimentale della cavia.

ALFONSO PORTELLA

Laboratorio di Batteriologia dell'Istituto di Tisiologia dell'Università di Napoli, il 30 ottobre, 1950.

Summary

The growth *in vitro* of M. tbc. (var. H. and B.) is totally inhibited by DDT ata concentration of 50–60 mg % and is also partially inhibited at a lower concentration. Its action upon the experimental tuberculosis of the guinea-pig is very slight.

<sup>1</sup> S. KIRKWOOD e P. H. PHILLIPS, J. Pharm. Exper. Ther. 37, 375 (1946); J. Amer. Chem. Ass. 69, 934 (1947).

<sup>2</sup> A. BURGER, E. GRAEF e M. S. BAILEY, J. Amer. Chem. Soc. 68, 1725 (1946).

<sup>3</sup> H. J. FLORESTANO, J. Pharm. e Exper. Ther. 96, 238 (1949).

Über die Empfindlichkeit der männlichen Wechselkröte gegenüber Chorion-Gonadotropin

Die parenterale Verabreichung von Gonadotropinen führt bei männlichen Kröten zur Ausscheidung von Spermatozoen im Harn<sup>1</sup>. Diese Reaktion ist verlässlich und spezifisch auf Gonadotropine sowie schnell und leicht zu beurteilen. Sie zeigt somit die Kriterien, die ganz allgemein von einem brauchbaren biologischen Test gefordert werden müssen. Die Praxis hat diese theoretische Eignung bewiesen: Der von GALLI MAININI<sup>2</sup> 1947 eingeführte Schwangerschaftstest mit männlichen Kröten – im Wesen nichts anderes als ein qualitativer Nachweis des im Harn der Schwangeren ausgeschiedenen Chorion-Gonadotropins – gewinnt immer größere Bedeutung.

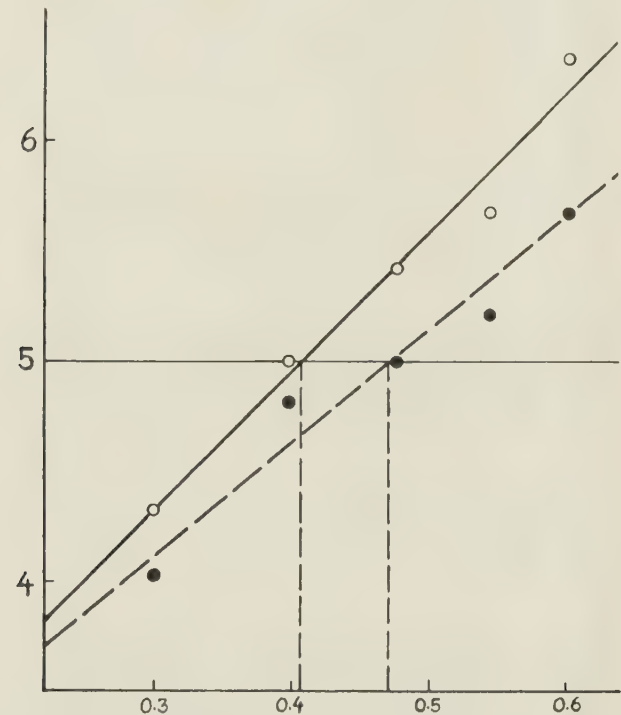
Da sich dieser Test in qualitativer Hinsicht durchwegs bewährt hatte, interessierte es, die quantitativen Beziehungen näher zu untersuchen. HOUSSAY (l. c.) setzte die Spermienzahl in der Kloakenurinprobe in Beziehung zur Größe der verabreichten Dosis. Eine solche Abhängigkeit konnte aber, in Übereinstimmung mit früheren Befunden<sup>3</sup>, nicht mit Sicherheit festgestellt werden; es erschien vielmehr einfacher und verlässlicher, die Wirkung einer bestimmten Dosis durch den Prozentsatz der positiv reagierenden Tiere – die eine gewisse Zeit nach der Injektion von Chorion-Gonadotropin Spermatozoen im Urin aufweisen – auszudrücken.

<sup>1</sup> A. ERCOLI, Farmaco 1, 257 (1946).  
<sup>2</sup> C. CATTANEO, Atti delVII° Congresso Naz. contro laTubercolosi, Milano, 1947.  
<sup>3</sup> G. DEL VECCHIO, Igiene e Sanità Pubblica 5, 487 (1949).  
<sup>4</sup> E. HAILER, Z. Hyg. u. Infektionskrank. 110, 22 (1929).  
<sup>5</sup> C. R. SMITH, Public Health Reports 62, 1285 (1947).

<sup>1</sup> B. A. HOUSSAY, Rev. Soc. Argent. Biol. 23, 114 (1947).  
<sup>2</sup> C. GALLI MAININI, La Semana Médica 54, 337 (1947).  
<sup>3</sup> J. F. D. FRAZER und F. X. WOHLZOGEN, J. Physiol. (im Druck).



Es war daher geplant, die Regressionslinie für Chorion-Gonadotropin an männlichen Kröten zu berechnen und die mittlere wirksame Dosis (ED 50), das ist diejenige Dosis, bei der 50% der Versuchstiere positiv reagieren, zu bestimmen. Als Spezies wurde die Wechselkröte (*Bufo viridis*) gewählt, die sich in Versuchen mit Stuten-serum-Gonadotropin bereits bewährt hatte<sup>1</sup>. Da BACH und SZMUK<sup>2</sup> an Fröschen gefunden hatten, daß beträchtliche jahreszeitliche Schwankungen in der Empfindlichkeit dieser Tiere gegenüber Gonadotropinen bestehen, wurden außerdem in der vorliegenden Arbeit die in den Monaten April und Mai erhaltenen Resultate miteinander verglichen.



Regressionslinien der Reaktion von *B. viridis* auf Chorion-Gonadotropin im April und Mai.

○ — April; —●— Mai. (Jeder Punkt repräsentiert das Ergebnis an einer Gruppe von 12 Tieren.)

Abszisse: Logarithmen der Dosen in IE PU.

Ordinate: Wirkungsprozentsätze in Probits.

Die Ordinaten der Schnittpunkte der Regressionslinien mit der Abszisse entsprechend einem Probit von 5 ergeben die Logarithmen der mittleren wirksamen Dosen.

Zu den Versuchen wurde durchwegs das internationale Standardpräparat für Chorion-Gonadotropin (0,1 mg = 1 IE) verwendet. Als Lösungsmittel diente glasdestilliertes Wasser (20°C). Die Lösungen wurden so eingestellt, daß die jeweils gewünschte Dosis von Chorion-Gonadotropin (PU) in 1 ml Lösung enthalten war. Die Kröten (17–20 g Körpergewicht), deren Urin vor Versuchsbeginn auf Spermienfreiheit untersucht worden war, erhielten einheitlich 1 ml der Versuchslösung in den dorsalen Lymphsack injiziert. Drei Stunden nach der Injektion wurde der Kloakenharn neuerdings mikroskopisch auf Spermatozoen untersucht. Alle diejenigen Tiere wurden als positiv gewertet, in deren Urin Spermatozoen – gleichgültig in welcher Menge – gefunden wurden. Das Resultat wurde für die einzelnen Dosisgruppen als Verhältnis der positiven Tiere zur Gesamtzahl der Tiere in

der jeweiligen Gruppe notiert und auf Grund dieser Daten die Regressionslinie von Wirkung auf Dosis errechnet.

Auf diese Weise wurden folgende Gleichungen der Regressionslinien für April und Mai erhalten:

$$\text{April } E = 2,42 + 6,32 X$$

$$\text{Mai } E = 2,59 + 5,12 X$$

Es bedeuten  $E$  = abhängige Variable (Wirkungsprozentsatz in probits<sup>1</sup>);  $X$  = unabhängige Variable (Logarithmus der Dosis in IE).

Daraus ergibt sich der Logarithmus der ED 50 für April (erhalten durch Gleichsetzen von  $E = 5$ ) als 0,40611 mit einer *variance*  $V = 0,00104$ ; das heißt, die ED 50 beträgt 2,55 IE PU mit den Grenzen 2,20–2,95 ( $P = 0,05$ ). Die entsprechenden Werte für Mai sind:  $\log \text{ED } 50 = 0,47085$  ( $V = 0,0016$ )  $\therefore$  ED 50 = 2,96 IE PU, Grenzen 2,47–3,54 ( $P = 0,05$ ).

Die Berechnung der relativen Empfindlichkeit April/Mai ergab das Verhältnis 1:0,85 mit den Grenzen ( $P = 0,05$ ) 1:0,65 bis 1:1,10. Eine Abnahme der Empfindlichkeit im Mai gegenüber April erscheint statistisch nicht gesichert. Der  $\chi^2$ -Test zeigte, daß eine signifikante Differenz weder zwischen den Neigungen der beiden Regressionslinien für April und Mai noch zwischen den beiden mittleren wirksamen Dosen besteht. Letzteres geht schon daraus hervor, daß sich die Grenzen der ED 50 für April und Mai (berechnet für eine Wahrscheinlichkeit von 95%) beträchtlich überschneiden.

F. X. WOHLZOGEN und A. HALAMA

Physiologisches Institut der Universität und Physiologisches Institut der Tierärztlichen Hochschule Wien, den 17. September 1950.

#### Summary

To test the sensitivity of the male European toad *Bufo viridis* to chorionic gonadotrophin (PU) in two successive months (April and May), the regression of response (viz. the appearance of spermatozoa in the toads' urine) on dose was investigated. The median effective doses of PU were calculated from the regression lines. They were found to be 2.55 i. u. (April) and 2.96 i. u. (May) with the fiducial limits ( $P = 0.05$ ) of 2.20–2.95 and 2.47–3.54 respectively. Neither can any significance be attached to the difference between the ED 50 for April and May, nor did the slope of the corresponding two regression lines vary significantly. The relative sensitivity of the toads in May as compared with that in April was found to be 85%, with fiducial limits ( $P = 0.05$ ) of 65 to 110%. These findings indicate that no appreciable change occurred in the sensitivity of *B. viridis* to chorionic gonadotrophin during the period under investigation.

<sup>1</sup> R. A. FISHER und F. YATES, *Statistical Tables*, 3rd ed. (Oliver and Boyd Ltd., Edinburgh and London, 1948).

#### Existence of True Males and Females in a Hermaphrodite Population of *Ophryotrocha puerilis*

The work of HARTMANN and his collaborators on sex reversal in the Polychaete worm *Ophryotrocha puerilis*<sup>1</sup> has raised a number of problems regarding sex determination and sex differentiation in hermaphrodite animals. In the case of *Ophryotrocha* HARTMANN's results

<sup>1</sup> F. X. WOHLZOGEN, Wiener tierärztl. Mschr. 37, 394 (1950).

<sup>2</sup> I. BACH und I. SZMUK, Lancet 257, 218 (1949).

<sup>1</sup> M. HARTMANN et al., Zool. Jahrb. 56, 389 (1936); 58, 551 (1938); 60, 1 (1940).



may be summarized as follows: (a) all individuals change sex from male to female phase at lengths ranging from 15 to 20 chaetigerous segments; (b) reversal from female to male phase can be produced experimentally by amputation leaving 5–10 segments, by starvation, by raising the K ion concentration, or by the action of ripe egg extracts. On the basis of these results HARTMANN<sup>1</sup> has concluded that age determines sexual constitution, youth favouring the male and age the female phase, the sex determination not being genetical.

It is difficult in my opinion to reconcile the existence of a given trend in the succession of sexual phases with the assumption of a purely phenotypical sex determination. As far as external factors are concerned, we must remember that, even in animals where genetical determination is a well established fact, sex inversions have been obtained by means comparable to those mentioned above. It is common knowledge that, if we remove the ovary from a hen, the right gonad hypertrophies and differentiates as a testis: CHAMPY<sup>2</sup> showed that even functional sperms can be produced in this organ, a result comparable to that found in *Ophryotrocha*. Sex reversal under the action of egg extracts may also be put into relation with the results of PADOA<sup>3</sup> who showed that female hormones in high concentration produce complete masculinisation of Amphibians. In general, the evident low specificity of many sexual factors in species where sex is demonstrably determined genetically forbids us at present to exclude a genetical component in the sex determination of *O. puerilis*.

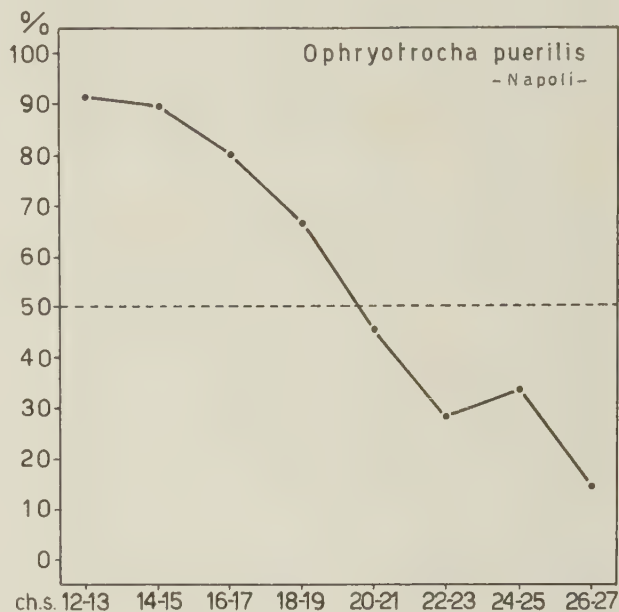
It must be pointed out that HARTMANN's experiments have been made with little reference to sexual conditions in nature. In a species where sex reversal is a normal occurrence, the succession of sexual phases under normal environmental conditions also requires to be considered carefully. Recent researches have demonstrated that hermaphroditism must be studied in large samples of a population<sup>4</sup>.

The present study has mostly been carried out on animals collected during the month of April in the harbour of S. Lucia in the Bay of Naples. Functional male and female phases are easily distinguishable in healthy specimens. It is therefore possible to estimate in *Ophryotrocha* the different proportions of individuals in the male and female phase at different ages and consequently the periods when changes of sex take place in the different individuals. For this purpose a method previously used by the author has been employed: if we plot the number of individuals in the male phase against the total number of individuals in each size class, we obtain a curve such as that shown in the figure: the abscissa represents the number of chaetigerous segments, the ordinate the percentage of individuals in the male phase. This curve, based on the examination of 526 specimens shows that:

(a) sex inversion may occur at any size class;

(b) there is a small percentage of females among the individuals of the lower size classes, a small percentage of males in the higher size classes. Ripe females with 11 and males with 32 chaetigerous segments were also observed among individuals collected in S. Lucia or from tanks within the Aquarium.

It would appear that previous authors<sup>1</sup> have either overlooked large size males and small size females or that they have studied the succession of sexual phases in a different sexual race of *O. puerilis*. It is now important to establish whether phenomena of alternative sexuality have any importance in the statistical composition of the population.



Animals were isolated and kept in Boveri dishes containing 10 cm<sup>3</sup> of Erd Schreiber to which were added every 5 days 2 cm<sup>3</sup> of a flourishing culture of *Chlamydomonas*, a corresponding quantity of liquid being removed from each dish. Exposition to light permitted the growth of *Chlamydomonas* in the Boveri dishes and, in order to maintain conditions as far as possible identical for this factor, the position of the dishes was interchanged whenever food was added. Food appeared to be superabundant at each inspection of dishes containing both large and small individuals.

8 ripe females measuring 11–12 chaetigerous segments were kept under these conditions, and at the end of four months they reached the size of 28–30 chaetigerous segments, always remaining in the female phase. One female only laid eggs (which were probably self-fertilized) at the length of 16 chaetigerous segments and again showed eggs three days subsequently, always remaining in the female phase. Individuals in the female phase of higher size classes always remained females, when kept isolated, with the exception of short periods of 5–10 days when they laid eggs and passed through a transitory male phase. It should be added that transitory male phases are more frequent in young individuals.

Out of 45 male phase individuals collected at lengths below 20 chaetigerous segments, only one remained male up to the size of 29 chaetigerous segments, when it was used for other experiments; a further two became females at the length of 26–27 segments, the others at different lengths below 25. Out of 6 male phase individuals taken from S. Lucia of initial sizes ranging from 27 to 32 segments, one individual measuring 27 chaetiger-

<sup>1</sup> M. HARTMANN, *Die Sexualität* (Fischer, Jena 1943).

<sup>2</sup> C. CHAMPY, C. R. Acad. Sci. Paris 209, 904 (1939).

<sup>3</sup> E. PADOA, *Monit. Zool. Ital.* 47, 285 (1936); *Pubb. Staz. Zool. Napoli* 19, 185 (1943).

<sup>4</sup> G. BACCI, *Pubb. Staz. Zool. Napoli* 21, 183 (1947); *ibid.* 22, 1 (1949); *Arch. Zool. Ital.* 34, 49 (1949); *Exper.* 7, 31 (1951).

<sup>1</sup> E. KORSCHULT, *Zeit. wiss. Zool.* 57, 272 (1893). – W. HUTH, *Z. Zellf. mikr. Anat.* 20, 309 (1933). – M. HARTMANN *et al.*, *Zool. Jahrb.* 66, 389 (1936); 68, 551 (1938); 60, 1 (1940).



ous segments became female when it reached 29 chaetigerous segments, another, at the size of 30 chaetigerous segments, developed medium size oocytes which lasted 3–4 days and then disappeared, the animal having reached the size of 31 segments when it died. The other individuals always remained in the male phase for periods varying from two to four months, when they were used for different experiments.

The statistical analysis of the population and the cultivation of isolated individuals in uniform conditions thus indicate the existence of intrinsic differences in the sexual differentiation of various individuals of the population. We will see in a following note how these intrinsic differences can account for different reactions toward the same sex changing factors.

Although there is in the Naples *Ophryotrocha* a tendency toward protandry and toward reversal to female phase, some individuals remain always males, some females. They can be called *true or primary males and females* (BACCI<sup>1</sup>). Some *Ophryotrocha* on the other hand become females at an old age, some at a medium, some at an early age. Sex conditions show the character of *continuous variation*. The author demonstrated similar facts in the Gastropod *Patella coerulea* and showed their close resemblance to phenomena previously observed in *Bonellia* and *Crepidula*, which must be considered *unbalanced hermaphrodites* (BACCI<sup>1</sup>). It would be wrong to infer from statistical observations or physiological experiments alone the type of sex determination in an animal. Breeding experiments will be needed to test the validity or otherwise of the hypothesis put forward jointly by G. MONTALENTI and the writer, which attempts to explain the different expressions of sexuality of these animals as resulting from the segregation of multiple genes<sup>1</sup>.

GUIDO BACCI

Zoological Station of Naples, October 2, 1950.

#### Zusammenfassung

Es wird mit statistischen und Zuchtmethoden bewiesen, daß bei *Ophryotrocha puerilis* in Neapel die meisten Individuen auf verschiedenen Altersstufen einen Geschlechtsumschlag zeigen, während einige Exemplare stets männlich oder stets weiblich bleiben (wahre oder primäre Männchen und Weibchen). Diese Geschlechtsformen bilden also eine ununterbrochene Variationsreihe, welche möglicherweise durch die Spaltung von multiplen Sexualgenen verursacht wird.

<sup>1</sup> G. BACCI, *Pubb. Staz. Zool. Napoli* 21, 183 (1947); *ibid.* 22, 1 (1949); *Arch. Zool. Ital.* 34, 49 (1949); *Exper.* 7, 31 (1951).

#### Handedness in Monkeys

In 1949, GRÜNTAL<sup>1</sup> published an interesting paper on the significance of a dominant hemisphere in man, in which he discusses the phenomenon of handedness. We find in this paper the remark that in apes and monkeys no preference for one hand is shown.

In 1876, FERRIER<sup>2</sup>, a brilliant observer of detail, studying the function of the brain and using for his experiments monkeys, noticed and recorded in the case of a rhesus monkey that it, "was found to be, as a rule, left-handed, taking things offered to it preferably with the left hand".

<sup>1</sup> E. GRÜNTAL, *Dtsch. med. Wschr.* 74, 943 (1949).

<sup>2</sup> D. FERRIER, *The Function of the Brain* (Smith, Elder & Co., London, 1876).

No one seems to have paid any attention to this chance observation, and very few people to-day know whether or not apes and monkeys in common with man have a dominant hand.

However, this point interested FINCH<sup>1</sup> in America in 1941 and he investigated what he calls "handedness" in thirty chimpanzees by training them to pull a string and use other apparatus, and so obtain food. Each animal was given 800 trials and a careful record was kept of the hand used.

He found that of the 30 subjects 25 showed a marked preference for one or the other hand; 18 used the same hand, 9 the left and 9 the right, in over 90% of the trials. Of the total number, those with the right or left hand dominant were almost equal.

Another fact which emerges from his experiment is that the degree of dominance varies from the 90% mentioned, down to the 5 cases where no clear preference for either hand could be detected.

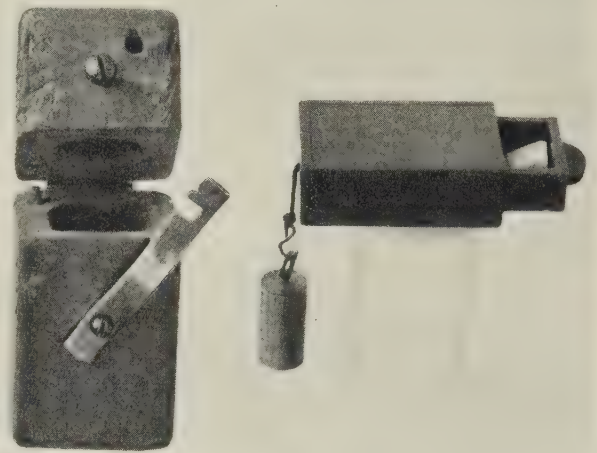


Fig. 1. – Problem box and match box drawer used in our tests.

Two years later YERKES<sup>2</sup>, also studying chimpanzees, was able to confirm the findings of FINCH, obtaining similar results which are recorded in his book on these animals.

Chimpanzees are of course high in the evolutionary scale, being classified as apes, so the question of the "handedness" of those a little lower down (i.e. monkeys) now arises.

Like FERRIER, we have used monkeys in our studies of brain functions, (GLEES and COLE<sup>3</sup>), and we have observed that not only one genus, but all the three which we have used, have a dominant hand<sup>4</sup>. It is difficult if not impossible to detect this merely by observing the animal climbing about its cage and eating its food, nor is it a reliable guide to observe which hand is used to take offered food, except in the case of animals with a very complete dominance of one hand. If we are to say with certainty which hand is dominant in a particular animal, it is essential that it should be trained to perform skilled acts.

For this purpose we used two pieces of apparatus, our problem box and our match box drawer (fig. 1). To

<sup>1</sup> G. FINCH, *Science* 94, 117 (1941).

<sup>2</sup> R. M. YERKES, *Chimpanzees* (Yale Univ. Press, 1943).

<sup>3</sup> P. GLEES and J. COLE, *Verh. dtsch. Zool. Mainz*, 198 (1949); *J. Neurophysiol.* 13, 137 (1950).

<sup>4</sup> P. GLEES, J. COLE, E. G. T. LIDDELL, and C. G. PHILLIPS, *Arch. f. Psychiat. u. Zschr. Neurol.* 185, 675 (1950).



	<i>Macaca Mu'atta</i>	<i>Macaca Nemestrina</i>	<i>Erythrocebus Patas</i>	<i>Papio Strepitus</i>	Total
Right-handed . . . . .	5	1	1	1	8
Left-handed . . . . .	4	2	—	3	9
Total . . . . .	9	3	1	4	—

open the latter, the animal must grip the protruding lip between the thumb and first finger, pull the drawer open and then it can obtain the bait from inside. In the case of the former, the catch has to be pulled to one side, the hinged lid bent back and the bait picked up. We consider that hand to be dominant which is used to pull open the drawer and to pull aside the catch (fig. 2).



Fig. 2. — *Macaca mulatta* monkey with dominant right hand opening match box drawer (from GLEES and COLE, 1950).

In a monkey with a very dominant hand, that hand is used for *all* the movements necessary to obtain the bait and to convey it to the mouth; monkeys with less dominant hands use the more dominant to open the box and the drawer and the less to pick out the bait and convey it to the mouth.



Fig. 3. — Left-handed *macaca nemestrina* discriminating between two objects in a leather bag by touch.

The opening of these boxes is a motor skill, but we find that the hand dominant for motor performance is also dominant for tactile discrimination.

If two objects of different shape, only one of which carries a reward, are placed in a leather bag, a monkey can be trained to insert a hand and arm into the bag and discriminate and pick out the rewarded object (fig. 3). The hand used for this highly skilled act is invariably the same as the one dominant in the performance of the motor tests of the boxes.

So far our experiments have involved four different types of monkey, two of which belong to the same genus, and our results may be expressed in the table.

These findings of ours in monkeys are in complete agreement with the work of FINCH and YERKES on chimpanzees, and we also agree that the degree of dominance in a hand varies in different animals.

These data would lead to the conclusion that apes and monkeys in their natural state, like primitive man, have the ability to use both hands, but that when, in the case of man, tools are used extensively and, in the case of apes and monkeys, training to skilled acts is given, a preference for one or the other hand becomes apparent.

No explanation of hand dominance is at present available so we would therefore like to suggest the following explanation.

While studying pyramidal degeneration after motor cortex lesions, we found that a varying number of fibres remain uncrossed. As a result, one half of the spinal cord receives a greater assemblage of fibres made up of crossed and uncrossed fibres than the other half. As far as we can see, the percentage of crossed fibres is a matter of chance. It may well that in motor acts which demand great skill that hemisphere which gives rise to a comparatively large proportion of crossed fibres has a slight advantage over the other.

It is also possible that the variability in the number of decussating sensory fibres which reach one hemisphere through the thalamus is an additional cause of the dominance of one hemisphere.

In the present state of our knowledge this seems to us to be the only hypothesis which offers a reasonable explanation of the dominance of one hemisphere.

In the subhuman primates the dominance of the left or right hand is about equal, while in man the use of the right hand is usual. It is further suggested that the preference for the right hand in man may be linked with the development of a motor speech centre (GRÜNTAL) usually in the left hemisphere, close to the hand region of the motor cortex.

J. COLE and P. GLEES

Department of Physiology University of Oxford,  
January 1, 1951.

#### Zusammenfassung

GRÜNTAL diskutiert die Bedeutung einer dominanten Hemisphäre für die Bevorzugung einer Hand (kontralateral). Er sprach die Vermutung aus, daß Rhesusaffen noch Ambidexter sind; erst bei den höheren Affen treten Unterschiede im Gebrauch einer Hand auf.

In unseren Studien über die motorische Rinde der niederen Affen (GLEES und COLE, GLEES, COLE, LIDDELL und PHILLIPS) konnten wir jedoch die Dominanz einer Hand deutlich feststellen. Die Bevorzugung einer



Hand tritt nur dann zutage, wenn das Tier bestimmte motorische und sensorische Geschicklichkeitsakte verrichten muß. Rechts- oder Linkshändigkeit scheint ziemlich gleichmäßig vertreten zu sein. Erklärungsmöglichkeiten der Bevorzugung einer Hand liegen in der variablen Anzahl von Pyramidenfasern, die kreuzend in das Rückenmark absteigen, oder in der wechselnden Zahl der kreuzenden, aufsteigenden, sensorischen Fasern, wodurch eine Hemisphäre begünstigt wird.

### Über die Fixierung von hochmolekularen Kohlehydraten in der Lunge<sup>1</sup>

Wenn Stoffe wie Hämoglobin, Peptone, Gelatine, Thyminukleinsäuren, Fibrinogen, Heparin usw. einem Tier intravenös injiziert werden, tritt nach kurzer Zeit im peripheren Blut eine Leukopenie ein. Auch die Injektion von Bakterienaufschwemmungen (Coli), ab-

wurde die früher beschriebene *Radiozirkulographie*<sup>1</sup> verwendet.

Wird radioaktives Natriumjodid (2,5 mC in 0,5 ml Wasser) in die rechte Armvene injiziert, kann über dem Herzen die dort lokalisierte Strahlungsintensität als typische zweigipflige Herzkurve registriert werden (Abb. 1). Der erste Gipfel (R) entspricht der Durchströmung des rechten Herzens mit dem markierten Blut, der darauf folgende Linksgipfel (L) derjenigen des linken Herzens. Die Extremitätenkurven zeigen ebenfalls einen Anstieg, sobald das radioaktive Blut dorthin gelangt (AB und BB). Die Interpretation der Radiozirkulogramme wurde an Hand von über 500 Versuchen im Detail bereits früher gegeben<sup>1</sup>.

Die Radiozirkulogramme mit Jodstärke und Jodglykogen zeigten in 20 Fällen das folgende Bild (Abb. 2). Die Strömung der markierten Kohlehydrate kann durch das rechte Herz verfolgt werden (R). Innerhalb der normalen Kreislaufzeit verschwinden diese im Lungengebiet und werden dort zurückgehalten. Als Folge davon

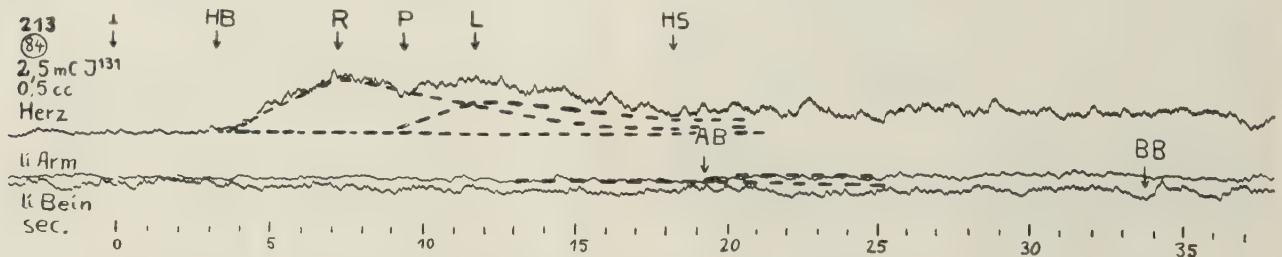


Abb. 1. Radiozirkulogramm nach Injektion von  $\text{NaJ}^{131}$ -Lösung. Ordinate: Strahlungsintensität über Herz, linkem Arm und linkem Bein. Abszisse: Zeit in Sekunden. I: Injektion, HB: Beginn der Herzaktivität, R: Rechtsgipfel, P: Beginn des Linksgipfels, L: Linksgipfel, HS: Schluß der Herzaktivität, AB: Beginn der Aktivität über dem Arm, BB: Beginn über dem Bein.

sterbenden oder toten Leukozyten, Metallkolloiden und Tusche kann eine solche bewirken. STAUB, BUCHER, MEZEY und GOLANDAS<sup>2</sup> haben die Leukopenie nach Glykogen, Stärke und Gummi arabicum am Kaninchen nachgewiesen. Bei der Durchströmung isolierter Kaninchenlungen am Starlingschen Herz-Lungen-Präparat und durch Versuche an eisverzierten Tieren haben diese gezeigt, daß die Granulozyten in der Lunge zurückgehalten werden, auch wenn die Lunge nicht erstdurchströmtes Kapillargebiet ist. Nach einiger Zeit gibt die Lunge die retinierten Leukozyten wieder in das zirkulierende Blut ab. Von STAUB wurde die Theorie entwickelt, daß die leukopenische Reaktion immer dann auftritt, wenn «körperfremde» Makromoleküle plötzlich in relativ großer Menge in den Kreislauf gelangen. Es können die von den Leukozyten adsorbierten oder phagozytierten Makromoleküle größere Aggregate bilden oder eine Versteifung der Plasmastruktur der Granulozyten zur Folge haben. Der Nachweis, daß sofort nach der Injektion in den Leukozyten Glykogen angereichert wird, gelang jedoch nie. Die Leukopenie hängt von der Größe der Glykogenmoleküle ab. Es muß daher angenommen werden, daß die Makromoleküle im Kapillarnetz der Lunge hängenbleiben und den Durchtritt der größeren Blutzellen (Granulozyten) verhindern.

Mit Hilfe der Bindung von radioaktivem  $\text{Jod}^{131}$  an die hochpolymeren Kohlehydrate Stärke und Glykogen können wir an Versuchspersonen direkt zeigen, daß die markierten Makromoleküle im Lungengebiet zurückgehalten werden. Für den Nachweis der Strahlung

tritt über dem linken Herzen keine Steigerung der Aktivität ein. Die Herzkurve bleibt eingipflig (Rechtsgipfel), der Linksgipfel fehlt. Auch in die Extremitäten gelangt dementsprechend kein Jod, und die zugehörigen Aktivitätskurven lassen nur den Nulleffekt erkennen.

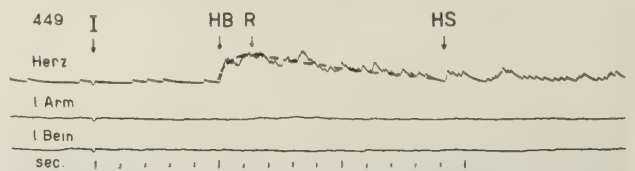


Abb. 2. Radiozirkulogramm nach Injektion von  $\text{Jod}^{131}$ -Stärke. I: Injektion, HB: Beginn der Herzaktivität, R: Rechtsgipfel, HS: Schluß der Herzaktivität.

Vereinzelt, besonders nach Injektion von Jodglykogen, ist ein zweiter Herzgipfel (L) und ein Ansteigen der Extremitätenaktivität angedeutet. Anscheinend wird nicht die gesamte Menge bei der ersten Durchströmung in der Lunge zurückgehalten. Ein kleiner Teil passiert das Filter und gelangt in den großen Kreislauf. Nach Injektion von Jodstärke scheint dies viel seltener vorzukommen. Der Grund dafür liegt in der andersartigen Bindung des Jodes an verschiedene Kohlehydrate. Das weitverzweigte Glykogenmolekül ist nur imstande, Jod adsorptiv, mit geringer Bindungskraft, an seine Seitenketten anzulagern. Stärke setzt sich aus der in geraden Ketten aufgebauten Amylose und dem ebenfalls verzweigten Amylopektin zusammen. Das lange Amylosemolekül scheint

<sup>1</sup> Arbeit auf den 60. Geburtstag von Herrn Prof. H. STAUB.

<sup>2</sup> H. STAUB, K. BUCHER, K. MEZEY und G. GOLANDAS, Klin. Wschr. 17, 1501, 1555 (1938); Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 191, 587 (1939); 194, 506 (1940); Schweiz. Med. Wschr. 73, 59 (1943).

<sup>1</sup> P. WASER und W. HUNZINGER, Exper. 6, 109 (1950); Helv. physiol. acta 7, C62 (1949); Cardiologia 15, 19 (1949); Schweiz. Med. Wschr. 81, 216 (1951).



helixartig aufgerollt zu sein<sup>1</sup> und ist durch Dipolkräfte befähigt, im Innern der Spirale Jodmoleküle in fester Bindung als Komplex (6–8 Glukosereste auf 1 J<sub>2</sub>) einzulagern. Für Amylopektin wird eine viel unbeständigere adsorptive Bindung des Jodes angenommen<sup>2</sup>. Nur der Amyloseanteil der Stärke gibt daher eine feste Jodbindung, und besonders für Glykogen ist das Durchschlüpfen einzelner Jodmoleküle durch das Lungenfilter zu erwarten.

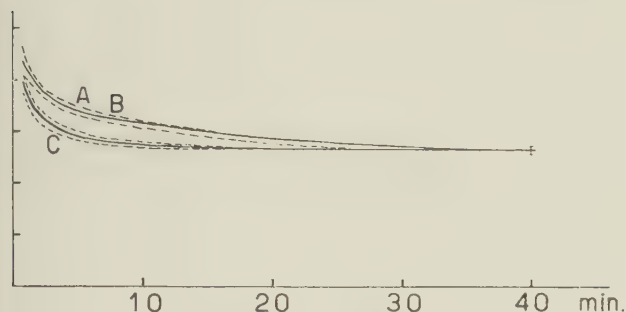


Abb. 3. Lungenaktivität von Kaninchen nach

- A) Injektion von J<sup>131</sup>-Stärke,
- B) Injektion von J<sup>131</sup>-Glykogen,
- C) Natriumjodid<sup>131</sup> (Extremwerte gestrichelt).

Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: Radioaktivität (willkürliche Einheiten).

In weiteren Versuchen an Kaninchen konnte gezeigt werden, daß Jodstärke und Jodglykogen längere Zeit in der Lunge festgehalten werden (Abb. 3). Über dem Lungenfeld der narkotisierten Tiere wurde die Radioaktivität während 40 Minuten integrierend (Integrationskonstante 30 Sekunden) registriert. Die zusammenfallenden Kurven A und B geben die Lungenaktivität nach Injektion von Jodglykogen bzw. Jodstärke, Kurve C Kontrollversuche mit Natriumjodid. Die Kurven sind Mittelwerte von 3 parallelen Versuchen (12 Tiere), deren Extremwerte gestrichelt eingezeichnet wurden. Die Streuung der einzelnen Kurven ist nur unwesentlich größer als die statistische Streuung einer Einzelmessung. Aus der Darstellung ergibt sich eindeutig, daß die Aktivität von Jodglykogen bzw. Jodstärke über dem Lungenfeld größer ist und langsamer abfällt als bei Injektion von Natriumjodid. Der Aktivitätsausgleich bei Jodstärke und Jodglykogen wird nach 35–40 Minuten erreicht, gegenüber 15 Minuten bei Natriumjodid. In den ersten 20 Minuten nach der Injektion ist die Aktivität über dem Lungenfeld 10–20 % höher als bei den Kontrolltieren, obwohl die Gesamtmenge des injizierten radioaktiven Jodes die gleiche war<sup>3</sup>.

Das verwendete Glykogen hatte ein mittleres Molekulargewicht (osmotrisch bestimmt) von 800 000, die Stärke ein solches von 150 000. Das J<sup>131</sup> erhielten wir durch Oxydation von NaJ<sup>131</sup> in saurer Lösung. Die Adsorptionsverbindungen hatten wegen der geringen Jodmenge (10 γ/ml) nur schwach blaue bzw. rötliche Farbe und wurden zur Entfernung von eventuell vorhandenen jonogenen Jodüberresten gegen physiologische Kochsalzlösung dialysiert.

<sup>1</sup> R. E. RUNDLE et al., J. Amer. Chem. Soc. 65, 142, 554, 2200 (1943); 66, 2116, 111 (1944).

<sup>2</sup> R. E. RUNDLE et al., J. Amer. Chem. Soc. 65, 142, 554, 2200 (1943); 66, 2116, 111 (1944).

<sup>3</sup> Bemerkung bei der Korrektur. Kürzlich haben K. BUCHER und H. EMMENEGGER (Bulletin der Schweiz. Akad. der Mediz. Wiss., im Druck) an Kaninchen gefunden, daß intravenös injizierte, wasserunlösliche Kügelchen vom Durchmesser 30 und 90 μ je nach Injektionsvene zu einer verschiedenen lokalisierten Embolisierung der Lungen führen. Daraus schließen sie auf eine nicht vollständige Durchmischung des Blutes im rechten Herzen.

Injektionsmenge: 0,5–1,0 ml wässrige Lösung mit 0,5 mC J<sup>131</sup> und 100 mg Stärke bzw. Glykogen.

Nach diesen Beobachtungen ist anzunehmen, daß ein großer Teil der injizierten Makromoleküle schon bei der ersten Passage im Kapillargebiet der Lunge zurückgehalten wird. Eine Phagozytose oder Adsorption an Granulozyten ist in dieser kurzen Zeit von 5–8 Sekunden kaum möglich. Die Makromoleküle scheinen viel eher für die nachfolgenden großen Zellen den Weg zu versperren, bis sie nach einiger Zeit fermentativ abgebaut werden. Die Hypothese von STAUB wird dadurch bewiesen.

Zudem kann auf diesem Wege erneut die Zusammensetzung der radiozirkulographischen Herzkurve aus 2 Einzelkurven für das rechte und das linke Herz gezeigt werden.

Von therapeutischem Interesse ist die selektive Fixation der Radioaktivität im Bereich der Lunge nach intravenöser Injektion von grobdisperssem Radiozink-Sulfid in Pektinlösung<sup>1</sup>. Die resultierenden Mikroembolien bleiben für längere Zeit im Gewebe liegen, während bei den beschriebenen Jodverbindungen der fermentative Abbau relativ frühzeitig beginnt.

P. WASER und W. HUNZINGER

Pharmakologisches Institut der Universität Zürich und Medizinische Universitätsklinik Basel, den 21. Dezember 1950.

#### Summary

I<sup>131</sup>-labeled glycogen and starch solutions are injected intravenously in men and rabbits. The passage of the substances through the heart and fixation in the lungs is recorded by radiocirculography. The results are in accordance with STAUB's theory of fixation of macromolecules in the lungs.

<sup>1</sup> J. H. MÜLLER und P. H. ROSSIER, Exper. 3, 75 (1947).

#### Sur la teneur en acide désoxyribonucléique des érythroblastes au cours de la mitose chez l'homme

Au cours de recherches systématiques au moyen de l'histophotomètre de LISON sur la teneur en acide désoxyribonucléique (a.d.r.n.) des noyaux des cellules sanguines<sup>1</sup> nous avons porté l'attention sur les variations quantitatives de cette substance au cours de la mitose. Les érythroblastes basophiles se prêtent à ces recherches d'une façon tout à fait élective.

La plupart des biologistes sont actuellement d'avis que, à la prophase, la teneur en a.d.r.n. des cellules augmente<sup>2</sup>. Cet acide récemment formé en se liant au stroma protidique des chromosomes, provoque la spiralisation et la mise en évidence de ces formations (nucléation). L'augmentation de la teneur en a.d.r.n. à la prophase se poursuit à la métaphase; elle atteint son maximum à l'anaphase. A cette période la cellule en mitose montre une double garniture chromosomique: elle aurait également une teneur double en a.d.r.n. par rapport à l'intercinèse.

A la télophase, chaque plaque chromosomique se transforme en noyau. Le nombre des chromosomes et la teneur en a.d.r.n. de ces noyaux-fils reviennent au niveau typique de l'intercinèse (catachromase).

<sup>1</sup> G. MARINONE, Le Sang, 1950 (sous presse); Boll. Soc. It. Biol. Sperim. 26, 1165 (1950); Haematologica 35 (1951).

<sup>2</sup> C. D. DARLINGTON J. Genet. (1944).



	Nombre des cellules examinées	Teneur caryo- logique minima	Teneur caryo- logique maxima
Prophase . . . . .	8	740	840
Métaphase . . . . . (aster)	10	651	851
Anaphase . . . . . (diaster)	15		
Teneur de chaque plaque chromosomique .		307	493
Teneur globale des deux plaques . . .		634	913
Noyaux d'érythroblastes en intercinèse . . . . .	40	554	994
Noyaux de petits lymphocytes . . . . .	40	321	485

Teneur en a. d. r. n. des différentes phases mitotiques des érythroblastes basophiles chez l'homme. (Dosage photométrique au moyen de l'histophotomètre de LISON sur une lame.)

L'étude photométrique des cellules épithéliales et germinatives en mitose chez les petits rongeurs n'a pas confirmé cette conception classique fondée sur l'examen visuel des préparations colorées au Feulgen. LISON et collaborateur<sup>1</sup> n'ont observé, en effet, aucune augmentation de l'a.d.r.n. dans les cellules aux différentes phases de la caryocinèse. La synthèse nucléique se produirait au contraire après tout mouvement mitotique cellulaire, à la télophase.

Dans aucun moment de la caryocinèse la cellule ne posséderait donc une teneur en a.d.r.n. double vis-à-vis de la teneur normale, même lorsqu'elle possède une garniture chromosomique double.

Nous avons examiné, au moyen de l'histophotomètre de LISON<sup>2</sup>, les variations de la teneur en a.d.r.n. des érythroblastes basophiles au cours de la mitose dans la moelle de deux sujets normaux.

Avec un photomètre très sensible l'intensité de la réaction de Feulgen dans le noyau de chaque cellule peut être exactement mesurée. Les valeurs observées ne sont pas absolues: elles sont en rapport avec l'intensité de la réaction nucléique d'une cellule préalablement choisie comme terme de comparaison (petit lymphocyte)<sup>3</sup>.

Nous avons observé que la teneur apparente en a.d.r.n. des normoblastes en mitose n'augmente pas à la *prophase*: la plaque chromosomique de l'aster possède en effet encore une teneur en a.d.r.n. strictement identique à celle des noyaux des érythroblastes en intercinèse.

A l'*anaphase*, l'a.d.r.n. de la cellule se répartit symétriquement entre les deux plaques chromosomiques du diaster. Chaque plaque chromosomique possède exactement la moitié de la teneur en a.d.r.n. de la cellule en métaphase: la teneur globale des cellules en anaphase est, par conséquent, encore identique à celle du noyau des érythroblastes en intercinèse (table).

Au début de la *télophase*, la teneur en a.d.r.n. des noyaux-fils est identique à celle de chaque plaque

chromosomique de l'anaphase. Elle est, par conséquent proche de la moitié de la teneur en a.d.r.n. des cellules en intercinèse.

Dès que la structure nucléaire typique est rétablie (membrane nucléaire, nucléoles, etc.) la teneur en a.d.r.n. augmente: elle atteint progressivement la valeur typique de l'intercinèse.

\* \* \*

Quelle est l'interprétation possible de ces faits?

Les chromosomes au début de la mitose (à la prophase), se forment indépendamment de toute synthèse d'a.d.r.n. La prétendue nucléination, qui conduit à la formation des chromosomes, paraît tout simplement une modification de l'arrangement intercinétique de l'a.d.r.n., des noyaux. En d'autres termes, ce sont les molécules d'a.d.r.n. des noyaux au repos qui vont se disposer autour du stroma protidique des chromosomes qui – comme on le sait – persiste à l'intercinèse. Aucune synthèse d'a.d.r.n. ne caractérise la prophase.

Les modifications des chromosomes à la métaphase et à l'anaphase paraissent presque exclusivement cinétiques: la teneur en a.d.r.n. de l'aster est identique à celle des noyaux à l'intercinèse; et d'autre part, chaque plaque chromosomique à l'anaphase (diaster) ne possède que la moitié de la teneur en a.d.r.n. de la cellule à la métaphase.

Une véritable synthèse d'a.d.r.n. ne se vérifie probablement dans la cellule qu'après tout mouvement caryocinétique, à la télophase, lorsque la structure nucléaire typique est suffisamment reconstituée. La synthèse en a.d.r.n. aboutit rapidement à la normale, la teneur caryologique de la cellule.

Les faits que l'on vient d'exposer s'accordent avec ceux que LISON, PASTEELS<sup>1</sup> et SESHACKAR<sup>2</sup> ont récemment illustrés. LISON et PASTEELS, à l'aide de recherches photométriques précises, démontrent que toute synthèse d'a.d.r.n. est absente dans les différentes phases de la mitose somatique et réductionnelle chez les petits rongeurs.

SESHACKAR, d'autre part, vient de constater les mêmes phénomènes chez les Ciliés. Chez ces protozoaires la synthèse d'a.d.r.n. se fait comme chez les mammifères à l'intercinèse (télophase tardive).

Il est certainement très prématuré de vouloir tirer de ces observations des conclusions générales. Il est, peut-être, possible, comme LISON et PASTEELS le disent, que le moment de la synthèse en a.d.r.n. ne soit pas le même dans tous les organismes, mais l'observation que des espèces cellulaires très différentes, telles que les cellules intestinales et germinatives des petits rongeurs, certains Ciliés, et les érythroblastes de l'homme, ont le même comportement à cet égard est cependant très suggestive.

Qu'il nous suffise de dire que les mitoses dans plusieurs types de cellules ne semblent pas toujours accompagnées de synthèse d'a.d.r.n.; que la teneur des chromosomes en a.d.r.n. diminue nettement au cours de l'anaphase; et qu'à la télophase dès l'apparition de la membrane nucléaire, loin d'observer une dénucléation du noyau, l'on observe, au contraire, très souvent un rétablissement de la teneur en a.d.r.n. des noyaux à la normale, à partir du niveau minimum des plaques chromosomiques de l'anaphase.

<sup>1</sup> L. LISON et J. PASTEELS, L'évolution de l'acide désoxyribonucléique dans la mitose somatique et réductionnelle (Comm. des auteurs).

<sup>2</sup> L. LISON, *Etude et réalisation d'un photomètre à l'usage histologique*, Acta Anat. 10, 333 (1950).

<sup>3</sup> G. MARINONE, Haematologica 1950 (sous presse). – L. LISON et J. PASTEELS, L'évolution de l'acide désoxyribonucléique dans la mitose somatique et réductionnelle (Comm. des auteurs).

<sup>1</sup> L. LISON, *Etude et réalisation d'un photomètre à l'usage histologique*, Acta Anat. 10, 333 (1950).

<sup>2</sup> B. R. SESHACKAR, Nature 165, 848 (1950).



Des études successives pourront préciser la signification et l'importance de ces observations jusqu'ici fragmentaires.

G. MARINONE

Clinique médicale de l'Université de Pavie, le 30 octobre 1950.

#### Riassunto

L'autore studia fotometricamente le modificazioni quantitative dell'acido desossiribonucleinico (a.d.r.n.) nel corso della mitosi degli eritroblasti nel midollo dell'uomo adulto normale.

Egli osserva che la quantità di a.d.r.n. contenuta in queste cellule alla metafase è identica al tenore cariologico degli eritroblasti a nucleo tipico in intercinesi. Nell'anafase si compie una semplice ripartizione del contenuto in a.d.r.n. e di conseguenza la quantità di a.d.r.n.; posseduta da ogni singola stella cromosomica alla fase di diaster è pari alla metà del tenore in a.d.r.n. dell'aster.

I nuclei degli eritroblasti figli, alla telofase precoce, hanno un tenore in a.d.r.n. pari press'a poco alla metà del tenore cariologico della cellula madre, e solo dopo la loro ricostituzione, terminati i fenomeni meccanici della cariocinesi, ha inizio in essi la sintesi dell'a.d.r.n.

I dati sovraesposti sono in accordo con quelli raccolti da LISON e collaboratori negli uccelli e nei piccoli mammiferi, e dimostrano che anche nelle cellule somatiche dell'uomo, la sintesi in a.d.r.n. non avviene durante l'evoluzione del processo cariocinetico, ma bensì dopo la ricostituzione dei nuclei, alla telofase.

### Influence de la Cortisone sur l'inflammation expérimentale de la chambre antérieure du lapin, causée par de la poudre de talc stérile

STEFFENSON<sup>1</sup>, OLSON<sup>2</sup>, GORDON<sup>3</sup>, BLAKE<sup>4</sup>, HENDERSON<sup>5</sup> et MANN<sup>6</sup> ont publié certaines observations cliniques d'affections oculaires, guéries ou améliorées par administration d'A.C.T.H. ou de Cortisone. La très grande majorité des travaux expérimentaux n'a cependant pas eu l'œil animal pour champ d'activité. Quand ils étudient l'influence des hormones stéroïdes sur le tissu conjonctif, c'est au niveau des organes sexuels ou aux organes pelviens, que LOEB, SUNTZEFF et BURNS<sup>7</sup>, GARDNER et PFEIFFER<sup>8</sup>, HALL et NEWTON<sup>9</sup>, TALMAGE<sup>10</sup>, EMERY et LAWTON<sup>11</sup>, DUCOMMUN et MACH<sup>12</sup> font leurs observations. TAUBENHAUS et AMROMIN<sup>13</sup> ont utilisé le tissu sous-cutané de la région sus-scapulaire du rat, quand ils ont étudié le rôle des hormones stéroïdes sur

le tissu conjonctif au cours d'une inflammation aseptique (abcès à la térébentine).

Il nous a donc paru utile d'étudier le rôle d'un agent irritant aseptique sur le segment antérieur de l'œil et de chercher à connaître la réponse du stroma irien quand la substance irritante (talc) est ou non mélangée à de l'acétate de Cortisone. La transparence de la cornée permet un examen microscopique du segment antérieur grâce à la lampe à fente, ce qui confère aux observations un caractère clinique et morphologique. Ces observations *in vivo* sont complétées après coup par des contrôles histologiques.

Un premier groupe de cinq lapins a reçu dans la chambre antérieure d'un œil de l'acétate de Cortisone<sup>1</sup> (0,2 à 0,4 cm<sup>3</sup> d'une solution à 1 %), un deuxième groupe du talc stérile et un troisième groupe un mélange de talc et d'acétate de Cortisone.

Deux jours après l'injection dans la chambre antérieure, on note au niveau du segment antérieur de l'œil une réaction très modérée ou modérée, dans le premier et le deuxième groupe. Par contre le troisième groupe réagit très violemment à l'injection. La cornée est œdématisée, une pseudo-membrane épaisse, vraie couenne, occupe tout ou partie de la chambre antérieure. Il n'y a cependant aucune cellule inflammatoire visible.

Après sept jours le premier groupe est pratiquement guéri. Il ne subsiste presque plus ou plus du tout de Cortisone sur l'iris et ceci depuis deux ou trois jours dans certains cas. La chambre antérieure est calme. – Le deuxième groupe ne montre pas une grande tendance à se débarrasser du talc qui saupoudre l'iris. Deux cas sur cinq se sont aggravés et l'inflammation (dépourvue de cellules inflammatoires) est aiguë. – Le troisième groupe est remarquablement amélioré et plus calme. Le talc et la Cortisone sont l'objet d'un intense processus d'absorption par des granulations issues du stroma irien. Les couennes pseudo-membraneuses sont rétractées dans l'angle irido-cornéen inférieur. Il n'y a pas de cellules inflammatoires.

Le quatorzième jour une comparaison de l'état oculaire des deuxièmes et troisièmes groupes est en faveur de ce dernier, car on aperçoit seulement sur les iris du deuxième groupe les dépôts de talc qui salissent leur surface antérieure. L'élimination du talc paraît être directement fonction du nombre de granulations visibles à la surface de l'iris. La dimension des couennes du troisième groupe est réduite à une petite bandelette blanche inférieure, alors que les pseudo-membranes du deuxième groupe, pourtant beaucoup moins denses au début, n'ont sensiblement pas régressé. Bref, dans le troisième groupe, quatre sujets sont très améliorés, deux sans changement depuis le début et le dernier est très aggravé.

Des faits expérimentaux qui précèdent, on peut conclure que le stroma irien du lapin réagit, tout comme l'humeur aqueuse, d'une manière éclectique vis-à-vis des substances étrangères introduites dans la chambre antérieure. La Cortisone exerce à l'état isolé un effet irritatif. Cette réaction inflammatoire aseptique est cependant très faible si on la compare à celle que déclenche le mélange talc et Cortisone. La réaction paraît être de même nature mais d'intensité différente. Par contre, les réactions qui suivent l'introduction d'une suspension de talc pur n'ont pas les mêmes caractères que celles qui apparaissent quand on injecte le mélange talc et Cortisone. La présence de Cortisone dans la chambre antérieure, qu'elle soit à l'état isolé ou associée à du talc, paraît

<sup>1</sup> La maison CIBA à Bâle a eu l'obligeance de mettre à notre disposition l'acétate de Cortisone. Nous lui en exprimons notre reconnaissance.

<sup>1</sup> E. H. STEFFENSEN, J. A. OLSEN, R. R. MARGULIS, R. W. SMITH et E. L. WHITNEY, Amer. J. Ophthal. 33, 1033 (1950).

<sup>2</sup> J. A. OLSEN, E. H. STEFFENSEN et R. R. MARGULIS, J. A. M. A. 142, 1276 (1950).

<sup>3</sup> D. M. GORDON et J. M. McLEAN, J. A. M. A. 142, 1271 (1950).

<sup>4</sup> E. M. BLAKE, R. M. FASANELLA et A. S. WONG, Amer. J. Ophthal. 33, 1231 (1950).

<sup>5</sup> J. W. HENDERSON et R. W. HOLLENHORST, Proc. Staff Meetg. Mayo Clinic 25, 490 (1950).

<sup>6</sup> W. A. MANN et D. E. MARKEN, Amer. J. Ophthal. 33, 459 (1950).

<sup>7</sup> L. V. LOEB, V. SUNTZEFF et E. L. BURNS, Amer. J. Cancer 35, 159 (1939).

<sup>8</sup> W. C. GARDNER et C. A. PFEIFFER, Physiol. Rev. 23, 150 (1943).

<sup>9</sup> K. HALL et W. H. NEWTON, J. Physiol. 106, 18 (1947).

<sup>10</sup> R. V. TALMAGE, Anat. Rec. 99, 571 (1947).

<sup>11</sup> E. EMERY et A. H. LAWTON, Amer. J. Physiol. 151, 134 (1947).

<sup>12</sup> P. DUCOMMUN et R. S. MACH, Sem. Hôp. Paris 26, 3170 (1950).

<sup>13</sup> M. TAUBENHAUS et G. D. AMROMIN, Endocrinology 44, 359 (1949).



favoriser, au cours des deux premiers jours, une hyperalbuminose temporaire de l'humeur aqueuse qui donnera naissance à des pseudo-membranes épaisses, couenneuses, douées d'un pouvoir rétractile. Elles isolent et concentrent en un point la plus grande partie des substances étrangères. Le second mécanisme défensif prend sa source dans le stroma irien. Celui-ci prolifère aux endroits où sont situés des agents irritants.

J. B. BOURQUIN

Clinique ophtalmologique de l'Université de Genève,  
le 25 novembre 1950.

### Zusammenfassung

Die Injektion von Cortison in die Vorderkammer des Kaninchenauges bewirkt ohne sonstige Nebeneffekte eine leichte Reizung des vorderen Augenabschnittes.

Der Talk, der zunächst ohne schädigende Wirkung aufgenommen wird, wird vom Irisgewebe selber nur schwer resorbiert und kann zu Augenkomplikationen führen. Eine Mischung von Talk und Cortison löst eine sofortige und heftige inflammatorische Reaktion aus, die im Laufe der ersten Versuchswoche regelmäßig abklingt. Bei Anwesenheit von Cortison wird Talk wesentlich rascher von der Irisoberfläche eliminiert, als dies bei alleiniger Verwendung des Reizkörpers geschieht. Im letzteren Falle bildet sich im unteren Iris-Kornea-Winkel ein den Talk umgebendes Granulationsgewebe.

### Les 17-cétostéroïdes tissulaires chez le rat porteur de sarcome chimique

De nombreux travaux ont été consacrés à l'étude de la teneur des tissus en stéroïdes<sup>1</sup>, mais peu d'entre eux ont eu pour but d'établir un diagramme de la répartition des 17-cétostéroïdes chez des animaux sains ou cancéreux. C'est pour cette raison que nous avons entrepris le présent travail qui complète et continue un travail antérieur effectué par JEANNET dans notre laboratoire<sup>2</sup>.

### Matériel et méthodes

2 séries distinctes d'animaux ont été utilisés, d'une part une série de 40 rats comprenant 20 mâles et 20 femelles et d'autre part 3 rats mâles plus âgés et porteurs de très grosses tumeurs (Tableau I).

Tableau I

Série	Nom- bre	Sexe	Age <sup>3</sup>	cancérigène <sup>4</sup>
1	10	♂ + ♀	6 mois	—
	10		10 mois	Méthylcholanthrène
	10		3 mois	—
	10		7 mois	Méthylcholanthrène
2	3	♂ + ♀	12 mois	Méthylcholanthrène

<sup>1</sup> C. HEUSGEM, *Actualités biochim.* N° 14 (1950). — H. VON EULER et B. SKARZYNSKI, *Biochemie der Tumoren* (F. Enke, Stuttgart 1942). — J. P. GREENSTEIN, *Biochemistry of Cancer* (Academic Press Inc., New York 1947). — C. AOKI, *Gann* 32, 100 (1938). — H. B. JONES, J. L. CHAIKOFF et J. N. LAWRENCE, *J. Biol. Chem.* 128, 631 (1939). — L. T. SAMUELS, *J. Biol. Chem.* 168, 471 (1947).

<sup>2</sup> E. JEANNET, *Oncologia* 3, N° 2 (1950).

<sup>3</sup> Age à l'autopsie.

<sup>4</sup> 5 mg en solution huileuse sous-cutanée par animal.

Tous les animaux utilisés proviennent de la même souche. Les animaux ont été sacrifiés au gaz d'éclairage (en vue de bloquer tout ou partie des systèmes respiratoires enzymatiques des cellules). On prélève alors les organes suivants: surrénales, gonades (testicules ou ovaires), rate, cœur, rein, foie, muscles abdominaux et tumeur.

Les organes sont hachés finement et la purée obtenue est étalée sur le fond de grandes boîtes de Pétri; on la dessèche sous courant d'air chaud (65°) pendant 48 heures. Les tissus desséchés sont alors réduits en poudre fine au mortier et laissés encore 24 heures à l'étuve à 57°. La poudre d'organe obtenue dans ces conditions est pesée. Elle est ensuite extraite par 30 cm<sup>3</sup> d'éther sulfurique purissime pendant 10–15 jours à la température du laboratoire et à l'obscurité. On sépare la poudre d'organe par filtration (lavage du filtre par 30 cm<sup>3</sup> d'éther neuf, ce qui porte le volume total d'éther à 60 cm<sup>3</sup>).

La solution étherée est placée dans une ampoule à séparation. On traite alors avec une solution de NaOH(N) (3 fois 20 cm<sup>3</sup>) puis par de l'eau distillée (1 fois 20 cm<sup>3</sup>).

Le surnageant d'éther est évaporé sous vide et le résidu sec repris dans l'alcool absolu rectifié. Après infiltration sur papier, la solution alcoolique est utilisée pour le dosage des 17-cétostéroïdes suivant la méthode légèrement modifiée de ZIMMERMANN (NEUKOMM<sup>1</sup>).

### Résultats

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau II et concrétisés dans la figure 1.

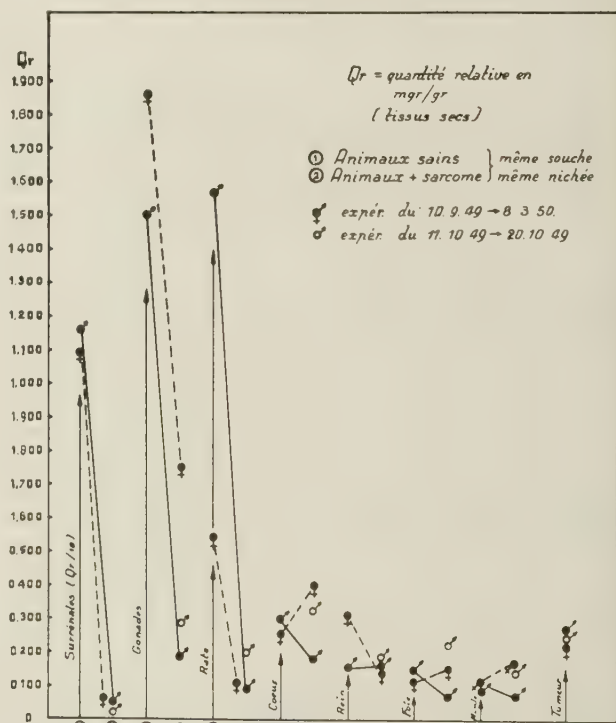


Fig. 1.

On peut remarquer que les valeurs trouvées dans les 2 séries indépendantes d'animaux, de même que dans les 2 groupes mâles et femelles sont très convergentes et toujours du même ordre de grandeur pour un organe donné. De plus, les tumeurs présentent un taux étonnamment fixe des substances dosées. Par rapport aux ani-

<sup>1</sup> S. NEUKOMM et A. REYMOND, *Exper.* 6, 62 (1950).



Tableau II

Série	1	1	2	1	1
Organes	♂	♂	♂	♀	♀
Surrénales . . . . .	11,570	0,500	0,177	10,900	0,555
Gonades . . . . .	1,500	0,190	0,290	1,860	0,750
Rate . . . . .	1,570	0,092	0,200	0,543	0,111
Cœur . . . . .	0,300	0,180	0,330	0,250	0,404
Rein . . . . .	0,155	0,166	0,177	0,150	0,315
Foie . . . . .	0,154	0,071	0,227	0,121	0,151
Muscle . . . . .	0,087	0,070	0,144	0,115	0,155
Tumeur . . . . .	—	0,266	0,253	—	0,254

Valeurs exprimées en milligrammes équivalents d'androstérone par gramme de tissu sec.

maux sains, les animaux cancéreux montrent des modifications considérables du taux des stéroïdes dans les surrénales, les gonades et la rate, taux qui dans chacun de ces organes tombent à des valeurs extrêmement basses. Dans les autres organes par contre, les taux comparés ne révèlent pas de différence très marquée. On doit cependant noter que dans la série 1, les taux de stéroïdes du cœur, du rein, du foie et du muscle évoluent entre l'état normal et l'état cancéreux de façon exactement inverse suivant le sexe de l'animal: à une augmentation même légère chez le mâle correspond une diminution chez la femelle (fig. 1). Ces variations considérables du taux des stéroïdes de la surrénale, des gonades et de la rate ne semblent pas s'accompagner d'une élimination urinaire augmentée. Les dosages répétés des 17-cétostéroïdes dans l'urine des groupes soumis à l'action du méthylcholanthrène ont donné des résultats très constants (fig. 2) du début à la fin de l'expérience.

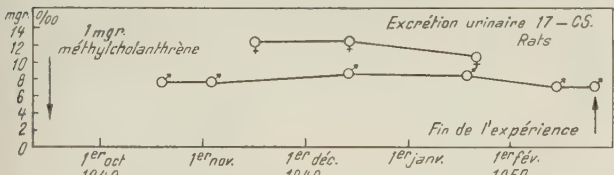


Fig. 2.

Discussion

Il faut rappeler que la réaction colorimétrique de ZIMMERMANN n'est pas spécifique des hormones androgènes, ni entièrement spécifique pour les 17-cétostéroïdes (HOLTORFF et KOCH<sup>1</sup>). Par ailleurs, la technique d'extraction puis de purification utilisée ne permet pas d'aboutir à l'isolement d'une substance bien déterminée. Ce que l'on peut affirmer, c'est que nos dosages portent en définitive sur un groupe de substances stéroliques comprenant d'une part, des hormones stéroïdes sexuelles ou non, telles que l'androstérone, le testostérone, la progestérone, le composé E de KENDALL, la désoxycotocostérone, etc., et d'autre part des dérivés plus ou moins directs du cholestérol tels que le 6-oxocholestérol, l'acide déhydrocholique, etc.

De toutes les substances qui pourraient se trouver dans nos extraits, les 17-cétostéroïdes sont néanmoins celles qui donnent la réaction colorée la plus intense. Jusqu'à plus ample informé, on est en droit d'admettre que nos dosages portent effectivement sur les 17-cétostéroïdes.

Si l'on compare nos résultats concernant les 17-cétostéroïdes à ceux d'AOKI<sup>1</sup> concernant le cholestérol et ses esters, les premiers obtenus à partir des organes de rats mâles porteurs de sarcomes provoqués par le méthylcholanthrène, les deuxièmes à partir des organes de rats porteurs d'hépatomes, on est frappé par la curieuse similitude de comportement de ces diverses fractions stéroliques (fig. 3). Ces observations constituent un solide

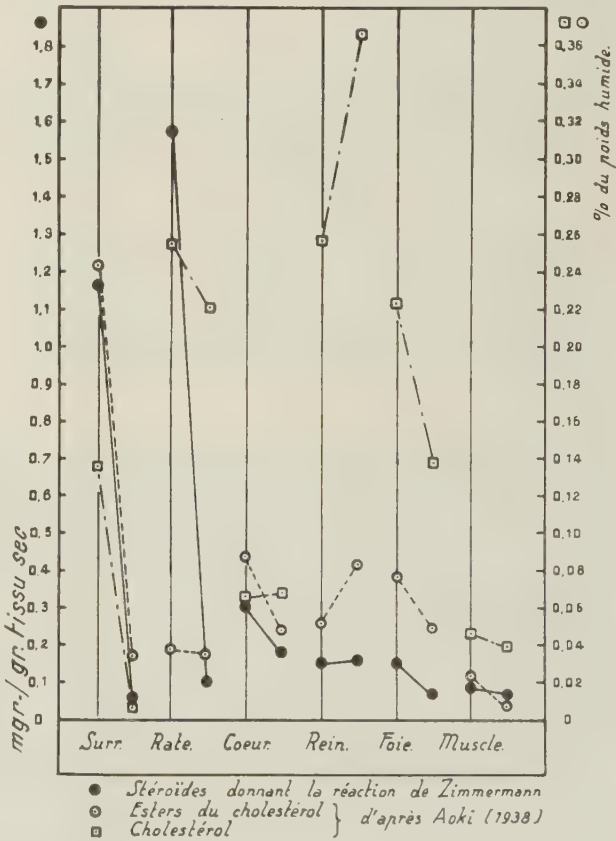


Fig. 3.

argument en faveur de l'idée que la présence d'une tumeur dans un organisme entraîne des perturbations biochimiques à distance, perturbations qui aboutissent pour un groupe de substances telles que les stérols à un remaniement profond de leur répartition entre les divers organes.

<sup>1</sup> A. F. HOLTORFF et F. C. KOCH, J. Biol. Chem. 135, 377 (1940).

<sup>1</sup> C. AOKI, Gann 32, 100 (1938).



De plus, l'absence de modifications sensibles dans le taux des stéroïdes éliminés par l'urine au cours de la cancérisation laisse supposer que le remaniement du taux des stéroïdes tissulaires n'est pas seulement quantitatif mais aussi qualitatif.

S. NEUKOMM

Service des Recherches expérimentales du Centre anticancéreux romand, Lausanne, Hôpital cantonal, le 14 novembre 1950.

### Zusammenfassung

1. Ein lokalisierter Krebs führt zu einer nennenswerten Änderung des Gehaltes an 17-Ketosteroiden in den Nebennieren, in den Gonaden und in der Milz. In diesen drei Organen ist die Steroidmenge deutlich vermindert, während der Gehalt in den übrigen Geweben und Organen nur recht wenig verändert ist. Was diese übrigen Organe anbelangt, so scheinen sich männliche und weibliche Individuen entgegengesetzt zu verhalten.

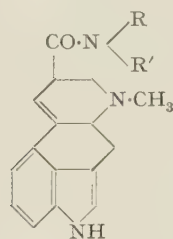
2. Im sarkomatösen Gewebe sind die «17-Ketosteroide» bemerkenswert konstant.

3. Geänderte Verteilung der genannten Steroidsubstanzen scheint nicht von einer vermehrten Ausscheidung im Organ gefolgt zu sein.

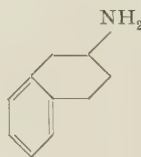
4. Die «Gewebs-17-Ketosteroide» verhalten sich wie Cholesterin und seine Ester. Die Befunde weisen darauf hin, daß ein Krebs ganz allgemein die Verteilung der Gewebsteroide stört.

### Recherches sur les dérivés de la 1,2,3,4-tétrahydro-2-naphtylamine présentant les propriétés sympatholytiques et ocytociques des alcaloïdes de l'ergot<sup>1</sup>

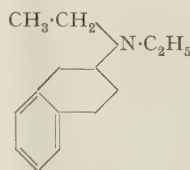
La structure des molécules des alcaloïdes de l'ergot a été établie par JACOBS, CRAIG, STOLL et HOFFMAN<sup>2</sup>, qui ont montré qu'elles étaient constituées par les amides d'un acide hétérocyclique – l'acide lysergique (I) – dont le groupe carboxylique se trouvait lié à un amino-alcool simple dans le cas de l'ergobasine (ergométrine), et à un radical polypeptique dans le cas de l'ergotamine.



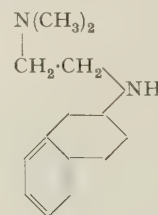
I



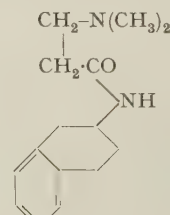
II



III



IV



V

Amide de l'acide lysergique  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine

La synthèse de l'acide lysergique représente un problème actuellement à l'étude et partiellement résolu. A partir de l'acide lysergique naturel il a été, d'autre part, possible de préparer de nombreux dérivés de synthèse

<sup>1</sup> Une partie des résultats rapportés dans cette note ont été présentés à la Réunion de la Skandinav. Pharmacol. Society à l'occasion du XVIII<sup>e</sup> Congrès international de Physiologie (Copenhague, 19 août 1950). La synthèse des dérivés à laquelle ont collaboré avec l'un de nous (G.-B. M. B.) S. CHIARELLI et G. PALAZZO a fait l'objet d'une communication au VI<sup>e</sup> Congresso Nazionale di Chimica (Milano 17-23 septembre 1950) et est en cours de publication [Gazz. Chim. Ital. 80, 281 (1950) et suiv].

<sup>2</sup> Cf. A. STOLL, Exper. 1, 250 (1945); Helv. chim. acta 32, 506 (1949).

partielle dont ROTHLIN<sup>1</sup> a mis en évidence l'intense activité pharmacodynamique.

Il a paru intéressant tant du point de vue théorique que pratique, d'entreprendre la recherche des groupements et des fonctions qui dans cette molécule complexe sont responsables de l'action pharmacologique.

Partant du fait que l'on peut reconnaître dans la molécule de l'acide lysergique le squelette de la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine (II) qui se rattache à son tour directement à la phénylisopropylamine et à la phényl-éthylamine, des considérations à la fois d'ordre chimique et pharmacologique, nous ont engagé à reprendre l'étude des substances de ce groupe. Environ 200 dérivés nouveaux ont été préparés, dont l'étude pharmacologique réalisée en particulier sur la pression artérielle et la motilité utérine tend à confirmer l'hypothèse selon laquelle le noyau de la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine constitue une partie essentielle du noyau responsable de l'activité pharmacodynamique des amides de l'acide lysergique.

1° dl-2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphtyl)-amine (II). – Il a été observé en premier lieu que le chlorhydrate de  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine dont les effets sympathomimétiques d'origine à la fois périphériques (hypertension, vasoconstriction, tachycardie) et centrale (hyperthermie, agitation) sont connus de longue date<sup>2</sup>, présente également à un degré remarquable la propriété d'inverser les effets vasomoteurs de l'adrénaline. L'action sympatholytique de la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine apparaît déjà nettement après l'injection de 5 ou de 10 mg/kg i.v. à un chien chloralosé; elle apparaît beaucoup plus dans cette amine que dans la phénylisopropylamine ou dans la phényléthylamine.

2° 2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphtyl)-diéthylamine (III). – Dans la série des dérivés alcoylés de la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine, le chlorhydrate de 2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphtyl)-diéthylamine (843 I.S.; éb. 104°/1,5; picrate p.f. 125°; III) qui n'avait pas été étudié jusqu'ici, manifeste sur la pression et sur diverses préparations d'organes isolés des propriétés sympatholytiques qui se marquent déjà à la dose de 2 mg/kg. Le produit lui-même n'est plus hypertenseur comme la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine, chez le chien chloralosé, mais hypoten-

seur. L'action sur les centres se traduit au contraire sur l'animal éveillé par une hypertension et une tachycardie analogue à celle que provoque l'injection de la base non substituée<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> E. ROTHLIN, Helv. physiol. pharmacol. acta 2, 48 (1944); Schweiz. med. Wschr. 76, 1254 (1946).

<sup>2</sup> E. BAMBERGER et W. FILEHNE, Ber. dtsch. chem. Ges. 22, 777 (1889).

<sup>3</sup> Les effets vasomoteurs et l'action hypertermisante de plusieurs autres N-alkyl- et N-dialkyl-tétrahydronaphtylamines ont été étudiés antérieurement par CLOETTA: Cf. M. CLOETTA et E. WASER, Arch. exp. Pathol. 73, 398 (1913); 98, 198 (1923); E. BRAUCHLI et M. CLOETTA, *ibid.* 129, 72 (1928). – E. WASER, Ber. dtsch. chem. Ges. 49, 1202 (1916).



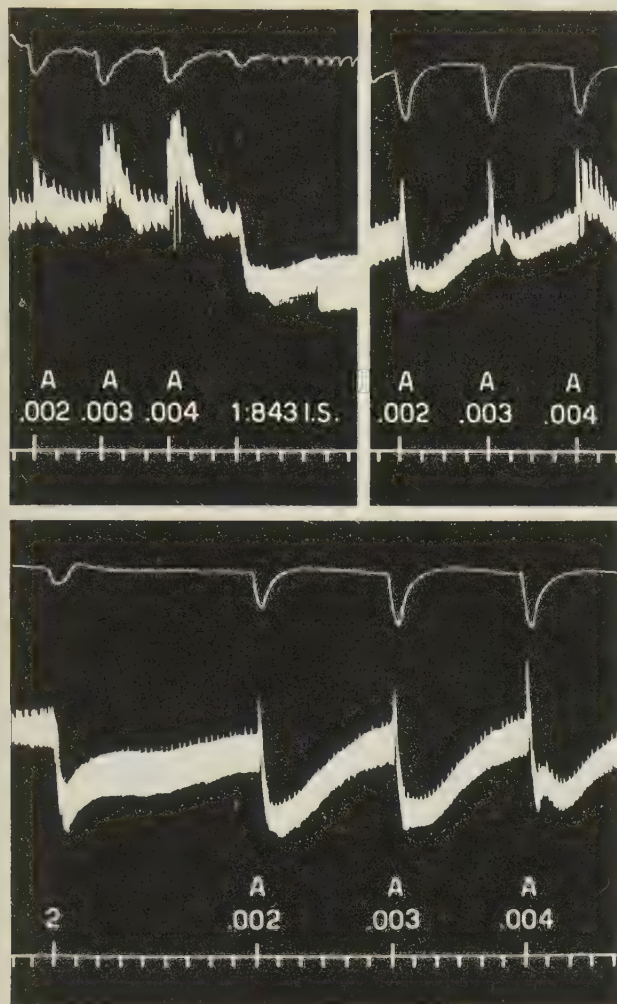


Fig. 1. – Action sympatholytique de la 2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphthyl)-diéthylamine (III) sur le chien chloralosé. Inversion de l'hypertension adrénalinique (A, 0,002–0,004 mg/kg) à la suite de l'injection de deux doses successives de 843 I.S. (1 et 2 mg/kg i.v.).

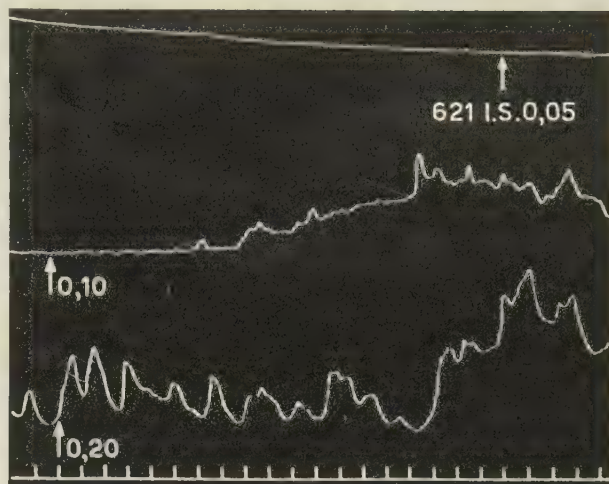


Fig. 3. – Action ocytotique du 621 I.S. sur l'utérus isolé de lapine. Effet des concentrations de 0,05 mg/l, 0,1 mg/l et 0,2 mg/l.

3° *Diamines*. – On a constaté que la substitution sur l'amine de la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine d'une chaîne alkylamine atténuait fortement à la fois les effets vasomoteurs et l'excitation des centres caractéristiques de la base non substituée.

Plusieurs dérivés de ce groupe ont été trouvés sympatholytiques et en particulier la *N,N*-diméthyl-*N'*-2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphtyl)-éthylène diamine (541 I.S.; éb. 120–130°/3; picrate p. f. 203°; IV) et la *N*-méthyl-*N'*-2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphtyl)-pipérazine (834 I. S.; éb. 140–160°/0,8).

4° *Amide-amines*. – La structure des amides-amines dérivées de la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine peut être étroitement rattachée à celle des alcaloïdes naturels de l'ergot.

Les dérivés de la  $\beta$ -alanine, quoique moins actifs quantitativement que l'ergotamine, présentent une activité typiquement sympatholytique. [(*N,N*-diméthyl-*N'*-2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphtyl)- $\beta$ -alaninamide (540 I.S. p. f. 55°; éb. 192°/3; iodométhylate p. f. 182–184°; V)].

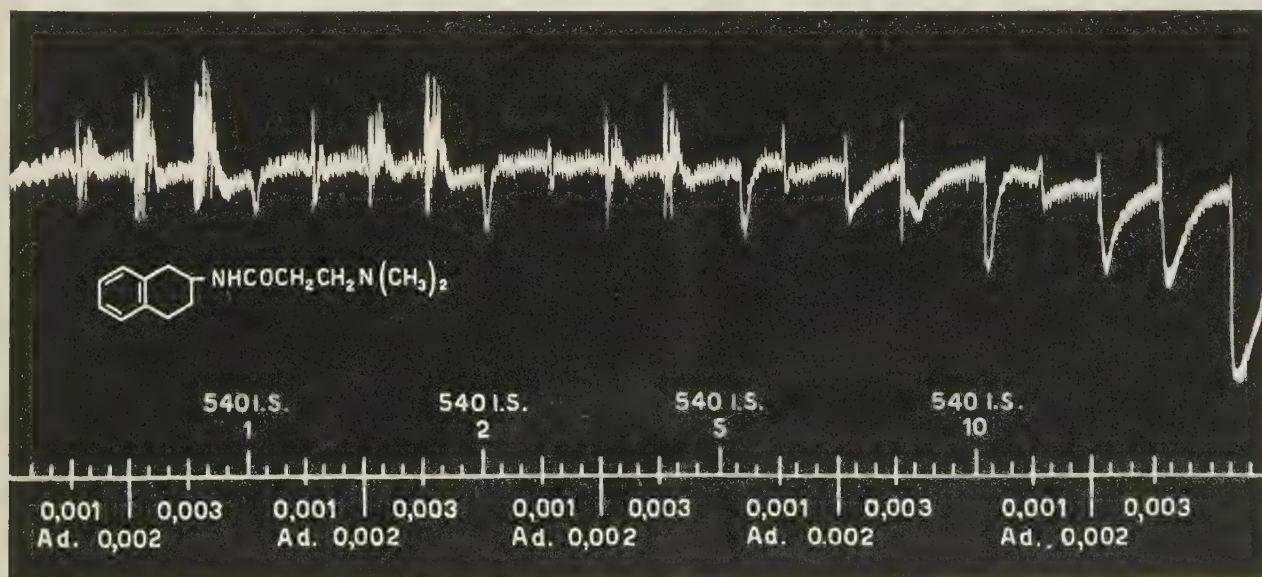
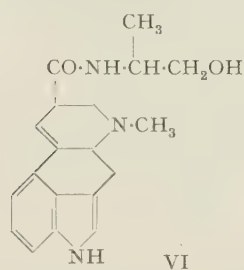


Fig. 2. – Action sympatholytique du 540 I.S. (V) sur le chien chloralosé. Inversion de l'hypertension adrénalinique (A, 0,001–0,003 mg/kg) à la suite de l'injection de quatre doses successives de 540 I.S. (1, 2, 5 et 10 mg/kg i.v.).

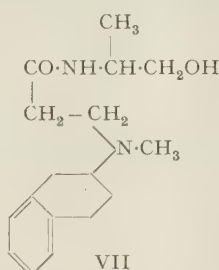
L'action est également caractéristique dans quelques amines quaternaires [iodométhylate de N,N-diméthyl-N'-2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphtyl)-glycinamide (778 I.S.; p. f. 198°)].

D'autres produits de la même série manifestent une action sur la motilité utérine qui peut être aussi intense que celle des alcaloïdes naturels. La N,N-diéthyl-N'-2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphtyl)-glycinamide (621 I.S.; éb. 166°/0,15; chlorhydrate p. f. 76–78°) produit à la concentration de 0,1 mg/l une concentration de l'utérus isolé de lapine ou de cobaye, et la N-2-(tétrahydro-1,2,3,4-naphtyl)-pipéridineacétamide (645 I.S.; p. f. 53°; iodo-méthylate p. f. 174°) est également active.

Pour certains dérivés d'amino-alcool, tel que la N'-isopropanol-N-méthyl-N-2-(tétrahydro-1,2,3,4)- $\beta$ -alaninamide (833 I.S.; éb. 150–165°/0,5; chlorhydrate p. f. 100°; VII) l'analogie à la fois d'ordre chimique et pharmacodynamique avec l'ergobasine (VI) apparaît particulièrement claire.



ergobasine (ergométrine)



#### Conclusions

Les résultats obtenus dans cette série de dérivés de la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine confirment les données de ROTHLIN et STOLL concernant l'indépendance des propriétés sympatholytiques et ocytociques des alcaloïdes de l'ergot. Ils attirent l'attention en particulier sur l'intérêt que présentent les substances de synthèses contenant à la fois la fonction amine et amide.

Un résultat instructif est constitué par le fait qu'il devient possible de trouver un élément commun à des molécules aussi différentes que ne le sont l'adrénaline, la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine et l'ergotamine. Ainsi qu'on l'avait déjà suggéré, l'introduction de nouveaux substituants dans la molécule de l'adrénaline est susceptible d'aboutir au complet renversement des effets de cette hormone. De même, prenant la  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine comme point de départ, il est possible, par l'intermédiaire des produits décrits dans cette note, de rejoindre la structure de l'ergotamine elle-même.

Il apparaît qu'une fois encore la recherche de telles analogies de structure entre produits qui manifestent un antagonisme compétitif, est susceptible de constituer une méthode réellement constructive dans la recherche de nouveaux dérivés de synthèse physiologiquement actifs.

D. BOVET, F. BOVET-NITTI,  
L. SOLLERO et G. B. MARINI-BETTOLO

Laboratorio di Chimica Terapeutica, Istituto Superiore di Sanità, Roma, le 16 décembre 1950.

#### Summary

$\beta$ -tétrahydronaphtylamine (II), his N-N-diethyl derivative (III) and various types of diamines (IV) and amide-amine derivatives (V) show characteristic sympatholytic properties, while other analogues (VII) are strong ocytotic compounds.

The hypothesis is advanced that  $\beta$ -tétrahydronaphtylamine—whose structure is similar also to phenylisopropylamine and epinephrine—represents an essential part of the nucleus responsible for the pharmacological activity of the alcaloids of ergot.

#### PRO LABORATORIO

#### A new Type of Tissue Slicer

In the course of our work we needed a large quantity of slices, totalling  $\pm 150$  g of tissue. It was necessary to cut the fresh tissues as rapidly as possible without freezing beforehand. The apparatus at our disposal were not satisfactory, because the hard and tough tissue could not be handled in an easy way, and to slice it free hand required too much time; moreover, the slices so obtained were not of uniform thickness.

To overcome these difficulties we designed in our laboratory a tissue slicer that meets our requirements very well.

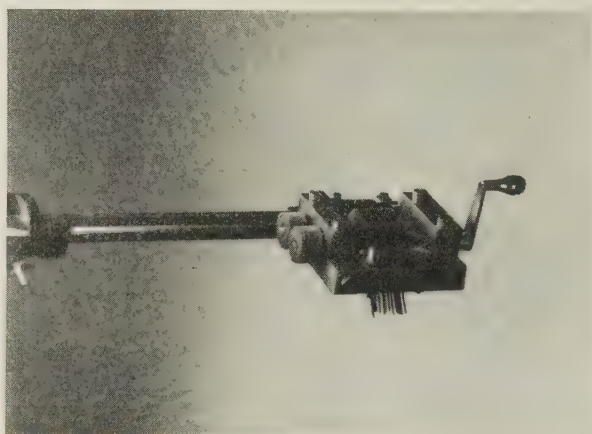


Fig. 1.

Unless otherwise stated the materials used are of stainless steel. Two parallel axes are fitted in a nickel-plated brass frame (see fig. 1). On each axis are clamped fifteen circular blades at  $\pm 0,9$  mm intervals.

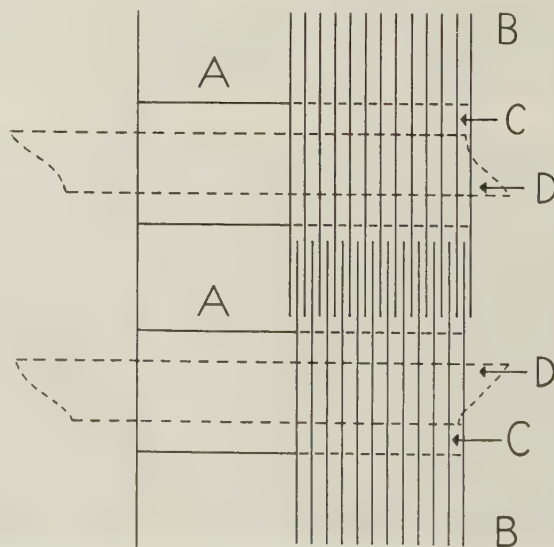


Fig. 2. — Only a part of the apparatus is drawn. Scrapers are omitted. A nuts. — B blades. — C rings. — D axes.



The blades have a thickness of 0,08 mm and a diameter of 2 cm. The two axes are so mounted in the frame that the circular blades of each axis can just rotate between the blades of the other, without touching the rings.

Seen from above our apparatus has the cross-section (see figure 2).

By turning one axis with a handle, the other rotates in the opposite direction by means of two rubber rollers (see fig. 1).

When an appropriate amount of tissue is placed on the upper side of the blades and the handle is turned, the tissue will be cut zigzag, the part of the tissue between blade and ring remaining intact. Schematically drawn, we obtain slices of the following shape:



Fig. 3.

We encountered a difficulty in preventing the blades taking the though slices with them and cutting them a second time, the result of which was a mince. This problem was solved by placing scrapers between the blades. They were made from V-shaped chromium-nickel wire with a diameter of 0,9 mm, with an eye on one end. The eyes were slipped on a stick and the scrapers were placed between the blades (see figure 4).

The blades are made from those normally used in safety razors by cutting them around the middle hole and sharpening separately.

With this apparatus about 150 g of slices could easily be obtained within 30 minutes.

When using the slices for respiration experiments, it is best to spread them on a filterpaper soaked in physiological saline and to cut out the thick joints.

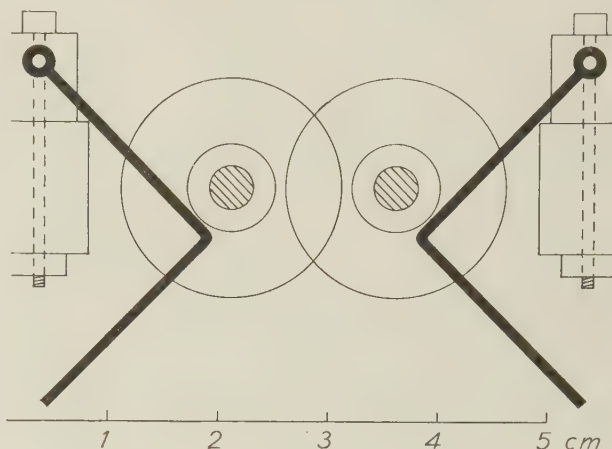


Fig. 4.

The  $O_2$  of these slices appeared to be the same as those cut freehand.

We thank Prof. Dr. F. KÖGL and Dr. W. A. J. BORG for their helpful advice.

J. DE FLINES

Organisch-chemisch Laboratorium Rijksuniversiteit Utrecht, November 27, 1950.

#### Zusammenfassung

Da die Gewinnung größerer Quantitäten von Gewebeschnitten für präparative Stoffwechselversuche auf manuellem Wege sehr mühevoll ist, wurde für diesen Zweck ein Apparat konstruiert, mit welchem zum Beispiel 150 g Gewebeschnitte von 0,45 mm Dicke innerhalb von 30 Minuten erhalten werden können.

## Nouveaux livres – Buchbesprechungen – Recensioni – Reviews

### Physiologie de l'Insecte

Par RÉMY CHAUVIN

619 pages, 83 figures

(Edition de l'Institut National de la Recherche Agonomique, Paris 1949)

(fr.fr. 2500.—)

Die Insekten sind ausgezeichnete Versuchstiere für die Behandlung der verschiedensten physiologischen Probleme. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß auf dem Gebiet der Insektenphysiologie in den letzten 10 Jahren, seit dem Erscheinen des ausgezeichneten Buches von V. B. WIGGLESWORTH: *The Principles of Insect Physiology*, eine Fülle von neuen Erkenntnissen gewonnen wurden.

Das Buch von CHAUVIN stellt eine wertvolle umfassende Neubearbeitung des Gebietes unter Berücksichtigung der Literatur bis Anfang 1948 dar. Der Stoff ist in neun Kapitel eingeteilt, deren jedes ein ausführliches Literaturverzeichnis enthält. Relativ knapp sind die

Kapitel über Integument, Häutung und Metamorphose abgefaßt. Ausführlicher werden die Verdauung, die Zirkulation und die Atmung behandelt. Besonderes Gewicht legt der Autor auf die Nerven- und Sinnesphysiologie, auf Reflexe, Tropismen und Psychismen. Gerade diese Erscheinungen sind in dem oben erwähnten Buch von WIGGLESWORTH nur sehr summarisch behandelt. Das Buch von CHAUVIN stellt deshalb nicht nur durch seine Berücksichtigung der modernen Literatur, sondern auch durch seine stoffliche Gliederung eine wertvolle Ergänzung zum Buch von WIGGLESWORTH dar. Die starke Berücksichtigung der Verhaltensforschung macht dieses Werk sehr wertvoll für den praktischen Entomologen.

Der Stoff ist sehr straff gegliedert, knapp, aber klar und flüssig dargestellt. Leider ist eine große Zahl von Druckfehlern im Text stehengeblieben. M. LÜSCHER

PS. Nach Drucklegung dieser Besprechung ist das Buch von V. B. WIGGLESWORTH, *The Principles of Insect Physiology* in Neubearbeitung erschienen. Eine Besprechung wird demnächst folgen.

## I Fenomeni cromosomici della meiosi

Di CLAUDIO BARIGOZZI

87 pagine; 32 illustrazioni

(Ambrosiana, Milano 1948)

La Cytologie est actuellement orientée vers deux directions bien différentes: sous l'égide de DARLINGTON, les cytogénéticiens progressent à une allure hardie, construisent des hypothèses, dont beaucoup se sont montrées remarquablement fécondes, mais témoignent d'un certain dédain pour le «fait»; ils ont foi dans la puissance du cerveau humain et ne sont pas éloignés de penser qu'une théorie générale de la cellule et de l'activité cellulaire peut être actuellement construite. Une autre école, qui se réclamerait volontiers de SCHRADER, pense que la synthèse est prématurée, qu'il faut encore accumuler des «faits»: la complexité des phénomènes est si grande qu'il faudra l'effort de plusieurs générations pour arriver à une explication qui pourrait bien, finalement, demeurer toujours partielle.

BARIGOZZI, professeur de Génétique à l'Université de Milan, est bien connu par ses beaux travaux de Cytologie et de Génétique. Il était particulièrement bien placé pour présenter, sous une forme concise, l'aspect actuel d'un problème central, celui de la méiose. Si ses sympathies inclinent nettement BARIGOZZI vers l'école cytogénétique, l'auteur italien demeure cependant lucide et critique: il connaît fort bien toute la bibliographie et ne néglige pas les faits qui militent contre les conceptions en vogue: celles-ci sont exposées avec une clarté que l'on chercherait souvent en vain dans les travaux originaux d'où elles sont tirées. En un peu plus de 70 pages, BARIGOZZI traite successivement de la méiose dans les organismes diploïdes homozygotes, dans les organismes hétéropléïdes, polyploïdes et haploïdes, dans les organismes hétérozygotes. Un quatrième chapitre est consacré aux processus de réduction observés dans la parthénogénèse et un cinquième aux chromosomes des glandes salivaires ainsi qu'aux phénomènes d'appariement que l'auteur a lui-même observés dans des cellules néoplasiques ou cultivées *in vitro*. L'ouvrage se termine par des considérations générales et par un chapitre où sont examinés les rapports entre «crossing-over» et chiasmata. Un index bibliographique donne les références principales.

Ce livre sera certainement très utile: il constitue pour les spécialistes de la Cytologie et de la Génétique un précieux aide-mémoire; il sera salué avec joie par les étudiants et les jeunes gens qui commencent une carrière de recherches et qui, pour s'orienter, ont besoin d'un fil d'Ariane.

R. MATTHEY

## Herrlicher Vogelflug

Von GORDON C. AYMAR

248 Seiten mit 175 Abbildungen  
(Verlag Werner Krebs, Thun 1949)  
(Fr. 22.—)

Cet ouvrage, paru en Amérique sous le titre de «Bird flight» offre avant tout une série de belles photographies d'oiseaux au vol. Le choix des figures est excellent, la présentation parfaite, on peut louer l'éditeur d'avoir contribué à sa diffusion en publiant une traduction allemande (par W. GUGGISBERG). G. AYMAR s'est proposé de réunir à l'usage des ornithologues et de tous ceux qu'intéresse le vol des oiseaux un choix d'instantanés

particulièrement instructifs. La plupart sont tirés d'autres publications, quatorze sont dus à l'auteur.

Le texte comprend quatre causeries qui ont pour objet la biologie du vol, l'aérodynamique, les migrations et même la phylogénie des oiseaux. Les figures sont abondamment commentées. L'auteur a puisé ses renseignements à de nombreuses sources. On peut lui reprocher cependant de n'avoir pas toujours été assez critique dans son choix. Certaines données se contredisent, plusieurs demandent à être vérifiées. La place nous manque pour en discuter en détail, relevons seulement quelques points.

Dans le bref exposé qu'il donne du mécanisme du vol ramé, AYMAR néglige un fait de première importance, la vitesse de translation de l'oiseau. Le degré de torsion de l'aile au cours du battement en dépend étroitement. A l'inverse de ce que pense l'auteur, cette torsion est plus accusée dans le vol lent que dans le vol rapide et c'est dans le vol sur place qu'elle atteint son maximum. Sur ce point, les croquis de la page 144 sont fautifs. Signalons une erreur dans le tableau indiquant, en ordre décroissant, la fréquence des battements chez quelques espèces (page 151). Le paddy oryzivore, un passereau, ne donne pas  $2\frac{1}{2}$ , mais sans doute 12 battements à la seconde et doit être placé après le moineau et non entre la buse et le vautour. Le tableau des vitesses (p. 156) est sans grande valeur comparative, car il lui manque l'indication des circonstances dans lesquelles les mesures ont été faites. En le parcourant, l'ornithologue sera surpris d'apprendre que le coucou a un vol lent et que la corneille vole plus vite que le pigeon. Les chiffres de 112 à 321 km/h donnés pour le martinet représentent des vitesses d'exception, l'allure habituelle de cet oiseau étant bien inférieure à 100 km (remarquons que c'est un illusionniste de la vitesse qui nous paraît traverser l'espace comme un bolide quand il rase nos toits à 70 km/h seulement). Le commentaire des figures 226 et 227 (balbusard) est tout à fait erroné. Il ne s'agit nullement d'une réduction voulue de la surface alaire, destinée à diminuer sa portance, mais d'une phase bien définie de la remontée de l'aile dans des battements à peu près horizontaux.

Si le texte prête parfois à la critique, il n'en reste pas moins riche en renseignements utiles. Les illustrations sont des documents d'une incontestable valeur, le spécialiste aussi y trouvera nombre d'instantanés d'un grand intérêt pour l'étude du vol.

M. REICHEL

## Grundzüge der terrestrischen Tierökologie

Von WOLFGANG TISCHLER

219 Seiten mit 65 Abbildungen  
(Verlag Friedrich Vieweg und Sohn, Braunschweig 1949)  
(DM 9.80)

In der deutschsprachigen Literatur hat es bis jetzt keine zusammenfassende Darstellung der modernen terrestrischen Tierökologie gegeben. Diese Lücke schließt der Verfasser mit seinen «Grundzügen». Der geringe Umfang des Buches hat ihn wohl eine gewisse Vereinfachung des Stoffes nicht immer vermeiden lassen. Trotzdem ist es kaum als Nachteil zu betrachten, wenn das dem Buche zugrunde gelegte ökologische Begriffssystem noch Gegenstand von Diskussionen ist, denn der Lernende wird es nur begrüßen, daß ihm die verwirrende Fülle ökologischen Einzelwissens zunächst in vereinfachter Form vorgebracht wird.

FR. SCHALLER



# Informations - Informationen - Informazioni - Notes

## STUDIORUM PROGRESSUS

### Über die Verwendung von Myzelsuspensionen als Impfmateriale in Wachstumsversuchen mit Pilzen

VON T. WIKÉN, H. G. KELLER, C. L. SCHELLING und A. STÖCKLI<sup>1</sup>

In den Untersuchungen über die physiologischen Eigenschaften der mykorrhizabildenden und streuzersetzenden Pilze sowie der Pilze, welche in der Rhizosphäre oder als Endoparasiten in den Wurzeln der Waldbäume leben, erfolgte die Impfung der flüssigen Substrate aus Kulturen der betreffenden Pilze auf festen Agarnährböden in Kulturröhrchen oder Petrischalen. Dabei wurden die Impfstücke mit einer Impfnadel, einem gewöhnlichen Skalpell oder einem speziellen Instrument aus der mit Myzel bewachsenen Nähragarschicht ausgeschnitten und mit großer Vorsicht in die Kulturkolben gebracht, so daß sie schwimmend auf der Oberfläche der Nährlösung verblieben, wodurch sofort Lufthyphen sich entwickeln konnten. In einigen Fällen wurden ganz besondere Vorsichtsmaßnahmen getroffen, um das Schwimmen des Impfmyzels sicherzustellen, zum Beispiel Verwendung eines Glasstabes als Träger des Impfmateriale, bis sich so viel Luftmyzel gebildet hatte, daß sich das Impfstück ohne Schwierigkeit auf der Substratoberfläche schwimmend halten konnte, oder Aufbewahrung der ausgeschnittenen Impfstücke auf der Oberfläche eines festen Agarnährbodens in einer Petrischale, bis sich eine genügende Menge Lufthyphen entwickelt hatte. Diese Impfmethode wurde besonders bei Pilzen verwendet, welche unter Laboratoriumsbedingungen keine Sporen, Konidien oder Oidien bilden, sowie bei Pilzen, welche als submerse Myzelien nur äußerst langsam zu wachsen scheinen. In einigen Fällen wurde das verhältnismäßig schlechte Wachstum in den submersen Kulturen auf schlechten Luftzutritt zurückgeführt (MELIN<sup>2</sup>, MELIN und Mitarbeite<sup>3</sup>, FRIES<sup>4</sup>, LIHNELL<sup>5</sup>, MODESS<sup>6</sup>, LINDBERG<sup>7</sup>, LINDBERG und Mitarbeite<sup>8</sup>, BJÖRKMAN<sup>9</sup>, PEHRSON<sup>10</sup>, WILKINS<sup>11</sup> usw.)

<sup>1</sup> Institut für landwirtschaftliche Bakteriologie und Gärungsbiologie, Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich, 15. November 1950.

<sup>2</sup> E. MELIN, Abderhald. Handb. biol. Arbeitsmeth. XI 4, 1015 (1936); Symb. Bot. Upsal. VIII 3 (1946).

<sup>3</sup> E. MELIN und B. NYMAN, Arch. Mikrobiol. 12, 254 (1941). – E. MELIN und G. MIDÉN, Svensk Bot. Tidskr. 35, 333 (1941). – E. MELIN und B. NORKRANS, Physiologia Plantarum 1, 176 (1948). – E. MELIN, T. WIKÉN und K. OEBLOM, Nature 159, 840 (1947). – E. MELIN und P. MIKOLA, Physiologia Plantarum 1, 109 (1948). – E. MELIN und B. NORKRANS, Svensk Bot. Tidskr. 36, 271 (1942). – E. MELIN und G. LINDBERG, Bot. Not. (Lund), 241 (1939). – E. MELIN und B. NYMAN, Arch. Mikrobiol. 11, 318 (1940).

<sup>4</sup> N. FRIES, Symb. Bot. Upsal. III 2 (1938); Svensk Bot. Tidskr. 36, 451 (1942); *ib.* 40, 127 (1946); *ib.* 44, 379 (1950); Physiologia Plantarum 3, 185 (1950).

<sup>5</sup> D. LIHNELL, Symb. Bot. Upsal. III 3 (1939); *ib.* V 2 (1942).

<sup>6</sup> O. MODESS, Symb. Bot. Upsa. V 1 (1941).

<sup>7</sup> G. LINDBERG, Symb. Bot. Upsal. VIII 2 (1944); Bot. Not. (Lund), 89 (1946); Ark. Bot. (Stockholm) 33 A:10 (1946); Svensk Bot. Tidskr. 40, 63 (1946); *ib.* 43, 438 (1949); Physiologia Plantarum 1, 196 (1948).

<sup>8</sup> G. LINDBERG und M. KORJUS, Physiologia Plantarum 2, 103 (1949). – G. LINDBERG und K. MOLIN, *ib.* 2, 138 (1949).

<sup>9</sup> E. BJÖRKMAN, Physiologia Plantarum 2, 1 (1949).

<sup>10</sup> S. PEHRSON, Physiologia Plantarum 1, 38 (1948).

<sup>11</sup> W. H. WILKINS, Brit. J. Exp. Path. 27, 140 (1946); Ann. Appl. Biol. 36, 257 (1949).

Die erwähnte Impfmethode hat nun neben gewissen Vorteilen auch Nachteile, und zwar unter anderem die folgenden:

1. Mit dem Impfstück wird nicht nur Pilzmyzel, sondern auch immer eine gewisse Menge des Impfkulturnähragars in die zu impfende Nährlösung eingeschleppt.

2. Durch das Einschleppen von Impfkultursubstrat wird die peinlich genau definierte Zusammensetzung der zu impfenden Nährlösung aufs Spiel gesetzt. Es ist bekannt, daß Agar unter anderem beträchtliche Mengen Wuchsstoffe und Spurenelemente enthält. Wenn der Nährboden der Impfkulturen, wie es oft der Fall ist, aus Malzagar besteht, kommen dazu die organischen und anorganischen Wirkstoffe des Malzextraktes. Ferner sind im Impfstück auch extrazelluläre Stoffwechselprodukte des Pilzes vorhanden. In Untersuchungen über die Bedeutung verschiedener Wuchsstoffe und Spurenelemente für das Wachstum der Pilze in genau definierten, synthetischen Nährlösungen kann somit unter Umständen die Eindeutigkeit der Ergebnisse wesentlich gefährdet sein.

3. Bei langsam wachsenden Pilzen sind die zur Herstellung gleichmäßiger Impfstücke notwendigen Impfkulturen auf festen Nährböden in Petrischalen einer verhältnismäßig großen Infektionsgefahr ausgesetzt. Diese Gefahr wird noch größer, wenn die ausgeschnittenen Impfstücke vor dem Impfen eine Zeitlang auf neuen Agarplatten aufbewahrt werden müssen.

Die erwähnten Schwierigkeiten lassen sich nun bei vielen Pilzen ausschalten, und zwar durch Verwendung einer *Myzelsuspension als Impfmateriale an Stelle der Impfstücke*. Diese Suspension wird in folgender Weise hergestellt:

Eine Glasflasche mit eingeschliffenem Stopfen wird zur Hälfte ihres Volumens mit Glaskugeln von etwa 6 mm Durchmesser beschickt. Dann wird so viel destilliertes Wasser zugesetzt, daß die Kugeln gerade bedeckt sind. Die Flasche wird so mit einem Pfropfen aus chemisch reiner Baumwolle verschlossen und im Autoklaven sterilisiert. Der dazugehörige Glasstopfen wird separat sterilisiert. Aus einer Kultur aus flüssigem (synthetischem) Substrat wird ein angemessenes Myzelstück geschnitten und in die Flasche steril übertragen. Die Flasche wird sodann mit dem sterilen Glasstopfen verschlossen und in einer Schüttelmaschine kräftig geschüttelt. Die Dauer des Schüttelns ist von der Natur und Menge des Myzels sowie vom gewünschten Verteilungsgrad der Myzelsuspension abhängig. Die so erhaltene Suspension enthält Myzelteilchen verschiedener Größe. Nachdem die größeren Teilchen sich abgesetzt haben, wird die überstehende Suspension, welche Myzel in sehr feiner Verteilung enthält, in einen sterilen Kolben pipettiert. Sie kann so nach Belieben mit sterilem destilliertem Wasser oder einer sterilen physiologischen Salzlösung verdünnt werden.

Die erwähnte Methode läßt sich selbstverständlich in verschiedenen Richtungen modifizieren. So haben wir in mehreren Fällen die zur Impfung bestimmten Pilzmyzelien direkt in der Flasche gezüchtet, welche beim Schütteln zum Zerteilen und Aufschwemmen des Myzels verwendet wurde. Dabei wurde die Nährlösung, welche als Substrat für das Impfmyzel gedient hatte, abgossen und die Myzeldecke zur Entfernung des Restes

Tabelle I

Zeit – Tage	Impfung mit Agarstückmyzel				Zeit – Tage	Impfung mit Myzelsuspension			
	Myzeltrockengewicht mg		$\bar{p}_H$			Myzeltrockengewicht mg		$\bar{p}_H$	
	<i>M</i>	$\delta$	<i>M</i>	$\delta$		<i>M</i>	$\delta$	<i>M</i>	$\delta$

<sup>1</sup> *Cenococcum graniforme*: Anfangs- $\bar{p}_H = 5,28$ . <sup>2</sup> *Mycelium Radicis atrovirens*: Anfangs- $\bar{p}_H = 5,14$ . Anzahl Parallelen = 3.

des alten Substrates zwei- bis dreimal mit sterilem destilliertem Wasser geschüttelt, bevor die Behandlung mit Glaskugeln in der Schüttelmaschine stattfand.

Bei gewissen Pilzen gestattet die Beschaffenheit des auf synthetischer Nährlösung gezüchteten Myzels, daß ein genügendes Zerteilen und Aufschwemmen durch kräftiges Schütteln ohne Verwendung von Glaskugeln zustande gebracht werden kann.

Wenn nötig können die in der Suspension vorhandenen Myzelfragmente beziehungsweise Hyphen durch wiederholtes Aufschwemmen in destilliertem Wasser oder physiologischer Salzlösung und Zentrifugieren unter sterilen Bedingungen gewaschen werden.

Von den Versuchen, bei welchen Impfung mit Myzelsuspensionen zur Anwendung kam, seien hier einige mit *Cenococcum graniforme* (SOW.) FERD. et WINGE, *Mycelium Radicis atrovirens* MELIN, *Paxillus Prunulus* (SCOP. ex FR.), *Tricholoma pessundatum* (FR.), *Tricholoma flavobrunneum* (FR. ex PERS.) und *Boletus*

*Grevillei* KLOTZSCH (*Boletus elegans* FR.) näher erwähnt. *Cenococcum graniforme* und *Mycelium Radicis atrovirens* wurden auf den von MELIN und MIKOLA<sup>1</sup> bzw. MELIN und NORKRANS<sup>2</sup> für diese Pilze vorgeschlagenen Substraten mit Diammoniumtartrat als Stickstoffquelle gezüchtet. Für die übrigen Pilze wurde die von MELIN und MIKOLA<sup>1</sup> beschriebene Nährlösung insofern modifiziert, daß sie nur 10,0 g Glukose und 0,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pro 1000 ml enthielt. Als Kulturgefäße dienten Erlenmeyerkolben aus Jena-Geräteglas 20 von 100 ml Fassungsvermögen, wobei jeder Kulturkolben 20 ml des betreffenden Substrats enthielt. Die Bebrütung erfolgte bei 25°C. Die geernteten Myzelien wurden mit destilliertem Wasser gewaschen und im Trockenschrank bei 100°C getrocknet. In den Tabellen I–III bezeichnet M das arithmetische Mittel der Myzeltrockengewichte bzw.  $\bar{p}_H$ -Werte und  $\delta$  die mittlere Abweichung der Einzelgrößen vom Mittel.

<sup>1</sup> E. MELIN und P. MIKOLA, Physiologia Plantarum 1, 109 (1948).  
<sup>2</sup> E. MELIN und B. NORKRANS, Svensk. Bot. Tidskr. 36, 271 (1942).

Tabelle II

Zeit – Tage	Myzeltrockengewicht mg		$\bar{p}_H$		Zeit – Tage	Myzeltrockengewicht mg		$\bar{p}_H$	
	M	$\delta$	M	$\delta$		M	$\delta$	M	$\delta$
<i>Paxillus Prunulus</i>					<i>Tricholoma flavobrunneum</i>				
10	4,2	1,0	5,04	0,14	7	0,7	0,3	5,38	0,04
12	6,4	1,1	4,67	0,00	13	5,5	1,1	4,84	0,06
17	16,9	7,1	4,36	0,08	19	16,5	0,4	4,32	0,01
22	108,5	2,8	2,68	0,10	23	21,1	3,6	4,19	0,16
28	112,7	3,1	2,72	0,04	30	36,6	1,0	3,83	0,03
34	115,6	0,6	2,73	0,02	35	35,8	3,2	3,75	0,08
<i>Tricholoma pessundatum</i>					<i>Boletus Grevillei</i>				
10	0,6	0,1	5,32	0,07	9	9,4	0,3	4,64	0,03
17	4,7	1,0	4,74	0,08	12	32,1	2,0	3,77	0,04
22	9,0	0,5	4,44	0,08	15	46,8	16,2	3,38	0,38
28	12,0	1,2	4,07	0,05	19	62,8	1,0	2,86	0,06
34	16,8	0,7	3,92	0,04	27	50,6	2,1	3,48	0,09

Anfangs- $\bar{p}_H = 5,85$ . Anzahl Parallelen = 3.



Tabelle III

Impfmenge pro Kolben (Myzeltrockensubstanz) mg	Cenococcum graniforme <sup>1</sup>				Mycelium Radicis atrovirens <sup>2</sup>			
	Myzeltrockengewicht mg		p <sub>H</sub>		Myzeltrockengewicht mg		p <sub>H</sub>	
	M	δ	M	δ	M	δ	M	δ
6 × 10 <sup>-2</sup>	186,8	0,4	2,72	0,02	80,4	0,1	7,33	0,05
6 × 10 <sup>-3</sup>	193,5	0,4	2,63	0,01	83,9	0,1	6,35	0,29
6 × 10 <sup>-4</sup>	72,4	8,2	3,33	0,28	76,8	6,0	4,97	1,41
6 × 10 <sup>-5</sup>	48,2	—	3,49	—	0,0	—	—	—
6 × 10 <sup>-6</sup>	0,0	—	—	—	0,0	—	—	—

<sup>1</sup> *Cenococcum graniforme*: Anfangs-p<sub>H</sub> = 5,28, Versuchszeit = 55 Tage.  
<sup>2</sup> *Mycelium Radicis atrovirens*: Anfangs-p<sub>H</sub> = 5,14, Versuchszeit = 34 Tage. Anzahl Parallelen = 2.

Die Tabellen zeigen, daß eine nach der oben erwähnten Methode hergestellte Myzelsuspension zu Wachstum befähigt ist, und zwar verläuft das Wachstum grundsätzlich in der gleichen Weise wie bei Impfung mit Agarstückmyzel. Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß bei *Cenococcum graniforme* und *Mycelium Radicis atrovirens* die Höchstausbeute an Myzeltrockensubstanz, welche in den mit Myzelsuspension geimpften Kulturen erreicht wird, von der gleichen Größenordnung wie diejenige in den mit Agarstückmyzel beimpften Kulturen ist. Ferner sei erwähnt, daß die Versuchsergebnisse darauf hindeuten, daß die bei der Impfung mit angemessenen Mengen der betreffenden Hyphensuspensionen auftretende Streuung der Myzeltrockengewichte und der p<sub>H</sub>-Werte ebenso groß wie oder kleiner als die Streuung ist, welche bei der Verwendung von Agarstückmyzel erhalten wird.

Auch bei den übrigen Pilzen (siehe Tabelle II) werden mit Myzelsuspensionen als Impfmateri al Trocken-substanzmengen erreicht, die von derselben Größenordnung wie die Mengen sind, welche bei der Impfung mit Agarstückmyzel festgestellt wurden (vgl. MELIN und LINDEBERG<sup>1</sup>, MELIN und NYMAN<sup>2</sup> sowie MELIN und NORKRANS<sup>3</sup>).

Aus Tabelle III geht hervor, daß bei gewissen Pilzen außerordentlich kleine Mengen aufgeschwemmter Myzel-fragmente und Hyphen ausreichen, um in synthetischen Nährlösungen normales Wachstum sicherzustellen. Die Verwendung zu kleiner Impfmengen führt unter Umständen zum Auftreten einer zu großen Streuung der in den Parallelkulturen feststellbaren Myzeltrockenge-wichte und p<sub>H</sub>-Werte.

Versuche über die Verwendbarkeit der Myzelsuspensionen als Impfmateri al wurden ferner durchgeführt mit *Boletus granulatus* L. ex Fr., *Marasmius foetidus* (Sow. ex Fr.) Fr., *Marasmius putillus* (Fr. ex Fr.) Fr., *Marasmius scorodonius* (Fr.) Fr., *Armillaria mellea* (M. VAHL ex Fr.), *Collybia butyracea* (BULL. ex Fr.), *Pholiota mutabilis* (SCHAEFF. ex Fr.), *Polyporus borealis* Fr., *Trametes gibbosa* (PERS. ex Fr.) Fr. usw. Dabei kamen synthetische Nährlösungen, Malzextraktlösungen und Streumaterialien, wie Lärchen- und Weißtannennadeln sowie Ahorn-, Birken-, Buchen-, Edelkastanien- und Eichenlaub, zur Verwendung als Substrate. In allen Fällen hat sich die Impfung mit Myzelsuspensionen bewährt. Diese Methode wird jetzt bei den im hiesigen Institut laufenden Untersuchungen über die Physiologie der mykorrhizabildenden und streuzersetzenden Pilze routinemäßig verwendet.

<sup>1</sup> E. MELIN und G. LINDEBERG, Bot Not. (Lund), 241 (1939).  
<sup>2</sup> E. MELIN und B. NYMAN, Arch. Mikrobiol. 11, 318 (1940).  
<sup>3</sup> E. MELIN und B. NORKRANS, Svensk Bot. Tidskr. 36, 271 (1942).

Die verwendeten Stämme von *Cenococcum graniforme*, *Mycelium Radicis atrovirens*, *Paxillus Prunulus*, *Boletus Grevillei*, *Tricholoma flavobrunneum* und *Tricholoma pessundatum* verdanken wir Herrn Prof. Dr. E. MELIN, Institut für physiologische Botanik, Uppsala. Die Stämme von *Collybia butyracea* und den *Marasmius*-Arten haben wir vom «Centralbureau voor Schimmelcultures», Baarn, erhalten. Übrige Pilzstämme haben wir selbst durch Gewebekulturen isoliert.

Die Untersuchungen werden aus dem Fonds zur Förderung der Wald- und Holzforschung sowie vom Eidgenössischen Institut für das forstliche Versuchswesen (Direktor, Prof. Dr. H. BURGER) unterstützt.

Summary

In investigations on fungi incapable of producing spores, conidia, or oidia under laboratory conditions the liquid media used for growth experiments are, according to the ordinary technique, inoculated with mycelium bits cut from colonies of the fungi grown on solid agar media in tubes or Petri dishes. The difficulties and disadvantages met with in employing this method are discussed.

A new method is described using mycelial suspensions for inoculation of liquid substrates. The suspensions are prepared by shaking bits of mycelial mats with glass beads, about 6 mm in diameter, and distilled water or "physiological" salt solution under sterile conditions. The large mycelial particles are allowed to settle. The supernatant suspension is pipetted into a sterile flask and diluted to the proper volume. The suspended particles may be washed by sedimenting in a centrifuge, resuspending in distilled water or salt solution, and recentrifuging under sterile conditions.

Of course the method may be modified in different ways. The new method is now used on a routine scale in this institute in investigations on mycorrhiza-forming and litter-decomposing fungi.

O ECOLOGICA

Un Inventaire de la Faune marine de Roscoff

C'est en 1872 que H. DE LACAZE-DUTHIERS fonda, de façon bien modeste, dans un petit port des côtes bretonnes de la Manche, ce qui est devenu aujourd'hui la puissante Station biologique de Roscoff. On peut donc s'étonner qu'en 80 ans, ou presque, ce laboratoire maritime n'ait jamais publié une liste méthodique d'animaux, comparable à celle de Naples, de Plymouth, de l'île de Man et d'autres stations encore. Mais c'est que, pendant très longtemps, le laboratoire de Roscoff, dépendance de la Faculté des Sciences de Paris, n'a eu qu'un personnel



scientifique peu nombreux, qui y venait temporairement à la belle saison, et qui, même à ce moment, devait satisfaire à d'assez lourdes charges d'enseignement.

Malgré tout son désir, ce personnel ne pouvait donc, à lui seul, mener à bien l'étude systématique de la faune. Des centaines de spécialistes de groupes divers sont venus du monde entier travailler au laboratoire depuis sa fondation et ont laissé souvent des renseignements précieux. Mais leurs séjours, généralement brefs et occupés par leurs propres recherches, ne permettaient pas l'organisation du travail collectif et continu, indispensable à une étude d'ensemble. De ce fait, aucune coordination ne pouvait être réalisée: certains groupes ont été négligés, et bien des données de grande valeur ont été perdues ou sont restées inexploitées.

Depuis quelques années, heureusement, un personnel stable et plus nombreux a été accordé à Roscoff. L'actif directeur de la Station, le professeur GEORGES TEISSIER, en a profité aussitôt pour mettre au point, avec une équipe de collaborateurs compétents, l'*Inventaire de la Faune Marine de Roscoff*<sup>1</sup>, dont les deux premiers fascicules viennent de paraître: l'un, rédigé par G. TEISSIER lui-même, traite des Cnidaire et Cténaire; l'autre, dû à l'assistant de la Station, CLAUDE LEVI, des Spongiaires.

L'aire géographique sur laquelle porte l'*Inventaire* est bien précisée dans l'avant-propos. C'est, sur une largeur de 20 à 25 milles, le front de mer, long de 85 km à vol d'oiseau, qui s'étend de Portsal à l'ouest à Trébeurden à l'est, et qui est couramment exploré à l'aide des voitures et des bateaux de la station. Seront signalées toutes les espèces dont la récolte, même accidentelle, dans cette aire a été attestée par un spécialiste qualifié. Cette dernière condition réduit au minimum le danger d'indications erronées. D'autre part sont exclues les espèces dont la présence, même probable, n'a pas été effectivement notée. L'*Inventaire* offrira donc une sécurité complète, et au biogéographe qui voudra en faire état, et au biologiste qui, désireux d'utiliser une espèce, saura quelles chances il a de l'obtenir à Roscoff en quantité suffisante pour ses buts.

Le nom moderne de chaque espèce est accompagné, s'il y a lieu, des noms plus anciens d'usage courant. Viennent ensuite quelques indications bibliographiques sur les ouvrages (monographies et faunes régionales usuelles) permettant l'identification et comportant diagnose et figures; puis un résumé de ce que l'on sait de la bionomie de l'espèce et de ses stations les plus caractéristiques, avec références régulières aux auteurs responsables de ces informations; enfin, si possible, des indications sur les périodes de reproduction. Comme mentions biogéographiques extérieures à l'aire considérée, seules sont données celles relatives à Plymouth, d'après la deuxième édition de la *Plymouth marine Fauna*: ceci pour faciliter d'instructives comparaisons entre les faunes des deux stations qui se font face en Manche.

Ainsi réalisés, les deux fascicules parus jusqu'ici sont très clairs et très pratiques par la condensation, en quelques lignes, des renseignements essentiels dont le zoologiste a immédiatement besoin. Leur présentation typographique est très agréable aussi, 147 espèces de Cnidaire sont portées à l'*Inventaire*, savoir 29 Hydroïdes Gymnoblastiques (12 Anthomédues), 63 Hydroïdes Calyptoblastiques (5 Leptomédues), 4 Trachymédues, 2 Siphonophores, 3 Hydrozoaires *incertae sedis* (*Protohydra* et *Halammohydra*), 9 Scyphozoaires, 5 Octocoral-

liaires, 1 Cérianthaire, 2 Zoanthaires, 25 Actiniaires, 4 Madréporaires. On y compte 2 Cténaire, et 132 Spongiaires parmi lesquels 19 Calcaire, 9 Tétractinellides, et 104 Monaxonellides.

Ces nombres provisoires seront évidemment dépassés grâce aux trouvailles futures, et l'*Inventaire*, à l'avenir, devra être périodiquement tenu à jour. Mais il faut d'abord l'achever. Dès à présent nous sont promis, à bref délai, les fascicules consacrés aux Mollusques, aux Annélides, aux Echinodermes, aux Prochordés, aux Bryozoaires, etc. Les autres suivront même pour des groupes encore peu étudiés, car l'*Inventaire*, étant un outil de travail, doit faire apparaître même ses propres lacunes, avec l'espoir de les combler plus tard.

On prévoit enfin de compléter l'ouvrage par des fascicules bionomiques dont la base sera donnée, évidemment, par la magistrale étude de G. PRUVOT (1897) sur les fonds et la faune de la Manche occidentale, comparés à ceux du Golfe du Lion. Mais le pittoresque livre de BEAUCHAMP (1913) sur les *Grèves de Roscoff* y fournira aussi une abondante documentation, et celle-ci s'enrichira encore de l'expérience écologique accumulée par ceux qui, depuis lors, ont continué l'exploration des fonds et de la zone des marées dans cette région.

Quand l'*Inventaire*, ainsi compris, sera entièrement sur pied, et qu'on pourra le rapprocher utilement des travaux similaires faits à Plymouth et à l'île de Man, on verra que la faune de cette portion du littoral atlantique, correspondant au nord de la Bretagne et au sud-ouest des îles Britanniques, sera une des mieux connues du monde. Aussi faut-il remercier le directeur de la Station biologique de Roscoff d'avoir suscité et de guider une publication collective utile aux zoologistes océanographes comme aux biologistes expérimentaux, et bien faite pour attirer les uns et les autres à cette station.

M. PRENANT

Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie comparées, Université de Paris, le 15 mars 1951.

### Addendum

Bemerkung zu der Arbeit «Über einen Di-Cholinester mit hoher Curarewirksamkeit» von K. H. GINZEL, H. KLUPP und G. WERNER, Exper. 7, fasc. 2, p. 72 (1951).

Die Gruppe der Di-Cholinester aliphatischer Di-Carbonsäuren ist erstmalig von D. BOVET und Mitarbeiter<sup>1</sup> bearbeitet worden. Unter den von diesen Autoren untersuchten Stoffen war auch der Adipinsäure-bis-cholinester. Die Autoren haben an der «Head-drop-Methode» an Kaninchen als erste die starke «curareartige» Wirkung solcher Verbindungen beschrieben. Die zitierten Arbeiten sind uns bekannt gewesen und von uns in der sich im Druck befindlichen ausführlichen Arbeit<sup>2</sup> eingehend gewürdigt worden. Wir bedauern es sehr, daß dies in oben erwähnter Mitteilung in «Experientia» nicht zum Ausdruck gebracht wurde, so daß völlig unabsichtlich der Eindruck entstanden ist, die oben zitierte Priorität D. BOVETS werde ignoriert.

K. H. GINZEL, H. KLUPP und G. WERNER

Pharmakologisches Institut der Universität Wien, den 7. April 1951.

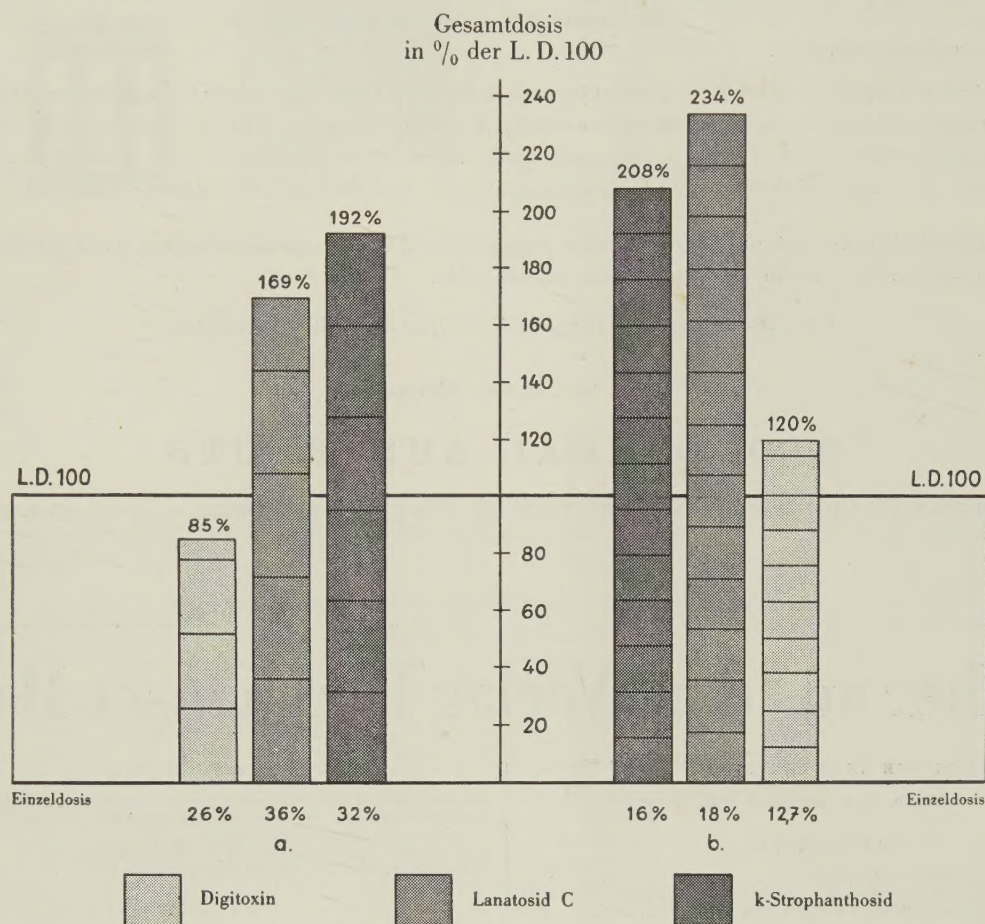
<sup>1</sup> Gaz. chim. ital. 78, 951 (1948); Rendiconti Ist. Sup. Sanità 12, 106 (1949); s. auch J. Amer. chem. Soc. 71, 3264 (1949).

<sup>2</sup> Arch. int. Pharmacodyn (im Druck).

<sup>1</sup> Inventaire de la faune marine de Roscoff. V. Cnidaire et Cténaire. VI. Spongiaire. Suppléments I et II aux Travaux de la Station Biologique de Roscoff, 42 p. et 28 p. (1950).



Mit den pharmakologischen Untersuchungen in den Laboratorien der Sandoz A.G. wurde ein wesentlicher Beitrag zur Differenzierung der verschiedenen herzwirksamen Glycoside geleistet.



Relative toxische Kumulation herzwirksamer Glycoside bei chronischer Verabreichung am Ganztier. Es wird diejenige Gesamtmenge eines herzwirksamen Glycosides, welche zum Tod des Tieres führt, verglichen mit der einmaligen letalen Infusionsdosis nach *Hatcher*

- a) bei Verabreichung von grösseren Einzeldosen,
- b) bei Verabreichung von kleineren Einzeldosen.

Die Versuche demonstrieren die geringe relative toxische Kumulation von Lanatosid C und k-Strophanthosid.

*Suter E., Rothlin E. und Bircher R.: „Glykosidwirkung auf Elektrokardiogramm und Myokard“.*  
*Helv. Physiol. Acta 7, 1, 1949*

**SANDOZ A.G. - BASEL**





# BIOLOGICAL ABSTRACTS

A cooperative undertaking by biologists themselves to provide a means for keeping abreast of the rapidly growing and increasingly diversified literature in all fields of biology.

No individual possibly could read the thousands of journals containing significant contributions to the biological sciences. It is well known that much needless effort has been expended on problems that already had been solved. That is why a comprehensive abstracting and indexing service is so necessary both in research and in teaching.

*Biological Abstracts* covers all the important journals in the United States and many throughout the entire world. Publishing close to 40000 abstracts annually, it affords the only means by which biologists can keep posted on the work of others in all fields of biology. The annual subscription price of \$40.00 (U.S. funds) is low because more than 3000 biologists contribute their services for little or no remuneration.

*Biological Abstracts* also is published in nine low-priced sectional editions specially designed for individuals who are interested only in one or more closely related fields.

The Back Volumes from Volume I (1927) to date still are available.

Write for complete information

# BIOLOGICAL ABSTRACTS

UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA PHILADELPHIA 4, PA., U.S.A.

## Bücher aus dem Verlag Birkhäuser Basel

### GRUNDLEHREN DER EXAKTEN WISSENSCHAFTEN

REICHENBACH, H.: Philosoph. Grundlagen der Quantenmechanik 23.—

### MATHEMATIK

ZWINGGI, E.: Versicherungsmathematik . . . . . 27.—  
FUETER, R.: Analytische Geometrie der Ebene und des Raumes . . . . . 22.50  
LINDER, A.: Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure, zweite, erweiterte Auflage . . . . . 30.—  
OSTROWSKI, A.: Vorlesungen über Differential- und Integralrechnung, Band 1, Funktionen einer Variablen . . . . . 47.50  
OSTROWSKI, A.: Vorlesungen über Differential- und Integralrechnung, Band 2, Funktionen mehrerer Variablen . . . . . 67.—  
STIEFEL, A.: Lehrbuch der darstellenden Geometrie . . . . . 28.50  
DOETSCH, G.: Handbuch der Laplace-Transformation, Band I . . . . . 78.—  
CARATHÉODORY, C.: Funktionentheorie, Band I 36.—, Band II . . . . . 24.50  
VOELKER, D. und DOETSCH, G.: Die zweidimensionale Laplace-Transformation . . . . . 43.—

### PHYSIK

GOMBAS, P.: Theorie- und Lösungsmethoden des Mehrteilchenproblems der Wellenmechanik . . . . . 29.50

### CHEMIE

NIGGLI, P.: Grundlagen der Stereochemie . . . . . 32.50  
BRANDENBERGER, E.: Röntgenographisch-analytische Chemie . . . . . 28.50  
KARRER, P. und JUCKER, E.: Carotinoide . . . . . 43.—  
HÄGG, G.: Die theoretischen Grundlagen der analytischen Chemie . . . . . 22.—  
BURRI, C.: Das Polarisationsmikroskop . . . . . 32.80

### EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

GÄUMANN, E.: Pflanzliche Infektionslehre, zweite, erweiterte Aufl. . . . . 44.50  
LEHMANN, F. E.: Einführung in die physiologische Embryologie . . . . . 38.—  
MURALT, A. VON: Die Signalübermittlung im Nerven . . . . . 38.50  
GÄUMANN, E.: Die Pilze, ihre Entwicklungsgesch. und Morphologie . . . . . 38.—  
VOUK, V.: Grundriß zu einer Balneobiologie der Thermen . . . . . 11.50  
BUDDENBROCK, W. VON: Vergleichende Physiologie, Bd. IV: Hormone . . . . . 47.50

### MINERALOGIE

MOOS, A. VON, und QUERVAIN, F. DE: Technische Gesteinskunde . . . . . 33.—  
BURCKHARDT, J. J.: Die Bewegungsgruppen der Kristallographie . . . . . 29.—  
NIGGLI, P., und NIGGLI, E.: Gesteine und Minerallagerstätten. Band I . . . . . 46.—  
Band II . . . . . \*

### ASTRONOMIE

PAHLEN, E. VON DER: Einführung in die Dynamik v. Sternsystemen 36.—  
NIETHAMMER, TH.: Die genauen Methoden der astronomisch-geographischen Ortsbestimmung . . . . . 32.—  
WALDMEIER, M.: Einführung in die Astrophysik . . . . . 47.50  
WALDMEIER, M.: Die Sonnenkorona, Band I . . . . . 28.60

### Textilchemie

FIERZ-DAVID, H. E., und MERIAN, E.: Abriß der chemischen Technologie der Textilfasern . . . . . 36.50

### Neueste Fortschritte und Verfahren in der chemischen Technologie der Textilfasern

DISERENS, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 1, 3. Auflage . . . . . \*  
DISERENS, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 2 . . . . . 78.—  
DISERENS, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 3 . . . . . 72.—  
DISERENS, L.: Neue Verfahren in der Technik der chemischen Veredlung der Textilfasern, Band 1 . . . . . 87.50  
DISERENS, L.: Neue Verfahren in der Technik der chemischen Veredlung der Textilfasern, Band 2 . . . . . \*

### Einzelwerke

SÄNGER, R.: Ballistische Störungstheorie . . . . . 14.50  
LOCHER-ERNST, L.: Differential- und Integralrechnung im Hinblick auf ihre Anwendung . . . . . 48.—  
HURWITZ, A.: Mathematische Werke . . . . . 44.—  
Band 1: Funktionentheorie . . . . . 44.—  
Band 2: Zahlentheorie, Algebra, Geometrie . . . . . 44.—  
SCHLAFLI, L.: Gesammelte mathematische Abhandlungen, Band 1 . . . . . 54.—  
THOMMEN, E.: Taschenatlas der Schweizer Flora . . . . . 12.50  
KALMUS, H.: Einfache Experimente mit Insekten. . . . . 9.75  
BRÄNDLI, H.: Theorie des Mehrfach-Schusses . . . . . 28.50

### Odonto-Stomatologie

SPRENG M./GASSER F./OPPKOFER E.: Zahnärztliche Prothese und Mundhöhlen-Carcinom . . . . . 23.50  
Beiträge zur Zahnmedizin, herausgegeben vom Dozenten-Kollegium des Zahnärztlichen Instituts der Universität Basel . . . . . 20.—  
VEST, G.: Lehrbuch der Kronen- und Brückenprothetik, Band I . . . . . 36.—

\* In Vorbereitung — \* en préparation

Sämtliche Bücher können durch die Buchhandlungen bezogen werden  
Verlangen Sie bitte gratis unsern neuen wissenschaftlichen Verlagskatalog